

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

J.-P. DUFAURE

1^{re} THÈSE. — Recherches descriptives et expérimentales sur les modalités et facteurs du développement de l'appareil génital chez le Lézard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin).

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.
Acquisitions récentes sur les Cnidocystes.

Soutenues publiquement le 18 février 1966, devant la Commission d'examen.

MM. P. DE PUYTORAC *Président.*

H. LUTZ
M^{me} N. LE DOUARIN } *Examineurs.*

MM. ET. WOLFF
R. HOVASSE } *Membres invités.*
R. CAMBAR }

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS (VI^e)

1967

SÉRIE E
N° D'ORDRE : 56

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

J.-P. DUFAURE

1^{re} THÈSE. — Recherches descriptives et expérimentales sur les modalités et facteurs du développement de l'appareil génital chez le Léopard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin).

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Acquisitions récentes sur les Cnidocystes.

Soutenues publiquement le 18 février 1966, devant la Commission d'examen.

MM. P. DE PUYTORAC *Président.*

H. LUTZ
M^{me} N. LE DOUARIN } *Examineurs.*

MM. Et. WOLFF
R. HOVASSE } *Membres invités.*
R. CAMBAR }

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS (VI^e)

1967

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND

Doyen.

M. ROQUES Maurice.

Premier assesseur.

M. SAUREL Jean.

Deuxième assesseur.

M. RAOULT Gaston.

Professeurs.

MM. DUBOIS Emmanuel	T	Physique.
RAMBAUD René	T	Chimie.
BLANC Eugène	T	Mécanique rationnelle.
ROQUES Maurice	T	Géologie - Minéralogie.
LAPADU-HARGUES Pierre	T	Minéralogie.
TRUFFAULT Robert	T	Chimie organique.
LUTZ Hubert	T	Biologie animale.
RAOULT Gaston	T	Physique.
CHAMPAGNAT Paul	T	Physiologie végétale.
DUPLESSIS-KERGOMARD Alain	T TP	Chimie.
AVAN Louis	T	Physique expérimentale.
PARIAUD Jean-Charles	T	Chimie physique.
M ^{me} HENNEQUIN Françoise	T	Mathématiques.
M ^{lle} BERTHET Ginette	T TP	Physique.
MM. LOISEAU Jean	T	Botanique pure et appliquée.
COMBE René	T TP	Physique.
DE PUYTORAC Pierre	T	Biologie - Zoologie.
M ^{me} AVAN Madeleine	T TP	Physique.
M ^{lle} DONDON Marie-Louise	T TP	Chimie physique.
MM. DELOST Paul	T TP	Physiologie animale.
SAUREL Jean	T TP	Physique.
VIALARD André	T TP	Chimie physique.
KOLHMULLER Robert	T	Chimie minérale.

Professeur associé.

M. BALANZAT Manuel Mathématiques.

Professeurs sans chaire.

MM. PETERLONGO Jean-Marc	Géologie.
BAILLAUD Lucien	Botanique.
VEISSIÈRE Roger	Chimie.
GUILLAUME Marcel	Mathématiques.
BATHIER Marcel	Physique.
M ^{lle} DUCHER Suzanne	Chimie.
M. HENNEQUIN Paul	Mathématiques.

Maîtres de conférences.

MM. MAISONNEUVE Jacques	Géologie appliquée.
CAPESTAN Michel	Chimie minérale.
MARTINET Pierre	Chimie.
ROCHE Jean-Etienne	Physique.
THOMAS Jean	Physique.
LENOIR Marcel	Mathématiques.
FALGAS Maurice	Mathématiques.
BERNARD Maurice	Physique.
ISABELLE Didier	Physique.
M ^{me} LE DOUARIN Nicole	Biologie animale.
MM. COLLEAU Jean	Mathématiques.
JOYON Louis	Zoologie.

Maître de conférences associé.

M. VO-KHAC-KHOAN	Mathématiques.
------------------------	----------------

Attachée principale.

M^{me} CHOPART Marie-Louise.



AVANT-PROPOS

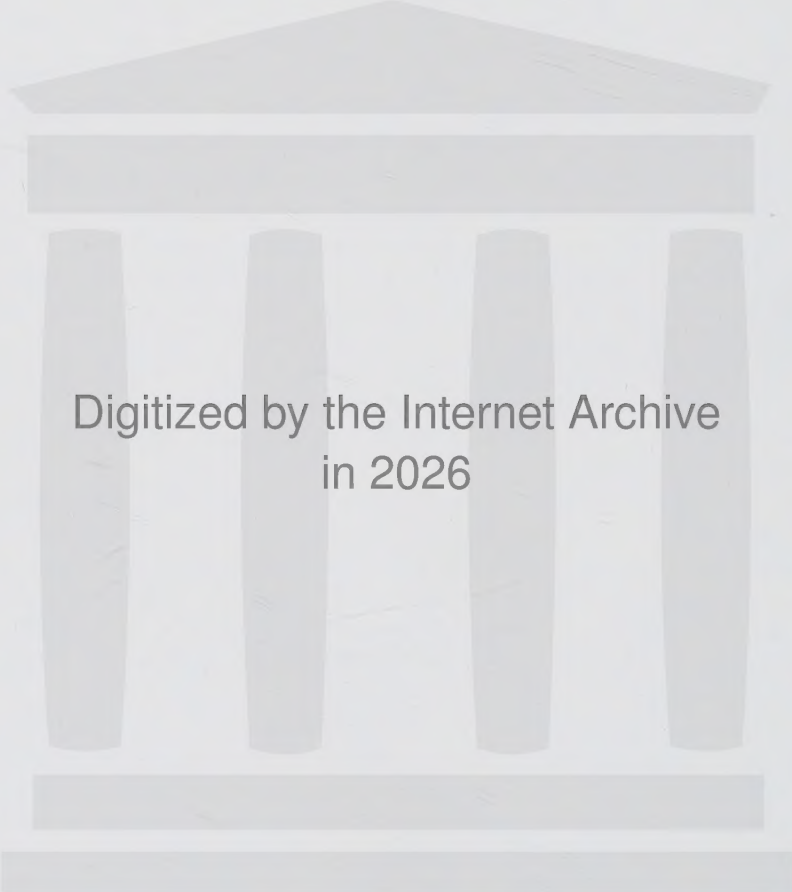
Avant d'exposer ce travail, je tiens à remercier M. le Professeur ET. WOLFF, membre de l'Institut, qui a toujours suivi mes recherches avec bienveillance et m'a fait le grand honneur d'accepter de se joindre à mon jury de thèse.

Le sujet de ce travail m'a été proposé en 1959 par mon Maître, M. le Professeur H. LUTZ, qui n'a cessé, depuis lors, de me prodiguer ses encouragements et ses conseils. J'ai trouvé dans son Laboratoire tous les moyens matériels qui étaient nécessaires à la poursuite de ces recherches. Il m'est agréable ici de remercier M. le Professeur H. LUTZ, pour toute son aide, intellectuelle et matérielle. Qu'il me soit permis d'associer à cet hommage M^{me} Y. LUTZ, auprès de qui j'ai toujours trouvé un accueil bienveillant et dévoué.

Il me plaît de me souvenir de mes origines universitaires, ayant effectué mes études à la Faculté des Sciences de Bordeaux. Grâce à l'amabilité de M. le Professeur R. CAMBAR, et à la bienveillance qu'il m'a toujours témoignée, je n'ai pas tout à fait quitté cette « patrie » spirituelle. Je n'oublierai ni la clarté de son enseignement, ni la justesse de ses conseils, ni la rigueur de sa pensée. Je le prie de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je suis heureux d'exprimer ma reconnaissance à M. le Professeur R. HOVASSE, qui a accepté de faire partie de mon jury, et à M. le Professeur P. DE PUYTORAC qui a bien voulu en assurer la présidence. Je ne saurais oublier qu'ils m'ont accueilli à la Faculté des Sciences de Clermont-Ferrand. Je remercie M^{me} N. LE DOUARIN de s'être jointe à mon jury.

Mon travail a été grandement facilité, en particulier par deux collaborateurs que j'ai plaisir à citer. Mon ami JEAN HUBERT, attaché de recherches au C.N.R.S., m'a souvent aidé dans la récolte du matériel, et nous avons partagé bien des soucis et bien des joies. M^{lle} SIMONE CHARBONNEL, aide de laboratoire spécialisée, m'a toujours secondé avec un dévouement inlassable; elle a assuré avec compétence l'illustration photographique de ce mémoire, et n'a ménagé ni son temps ni sa peine pour m'aider à terminer ce travail. Je les remercie bien sincèrement.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548621_0018

RECHERCHES DESCRIPTIVES ET EXPÉRIMENTALES
SUR LES MODALITÉS
ET FACTEURS DU DÉVELOPPEMENT
DE L'APPAREIL GÉNITAL
CHEZ LE LÉZARD VIVIPARE
(*LACERTA VIVIPARA* JACQUIN)

Par J.-P. DUFAURE

(Laboratoire de Biologie Animale
de la Faculté des Sciences de Clermont-Ferrand.)

SOMMAIRE

INTRODUCTION	439
MATÉRIEL ET MÉTHODES	443

Première partie :

RECHERCHES DESCRIPTIVES
SUR LE DÉVELOPPEMENT DE L'APPAREIL GÉNITAL

I. — FORMATION DE LA GONADE ET DES CONNEXIONS URO-GÉNITALES.....	449
A. <i>Evolution des gonocytes primordiaux</i>	449
B. <i>Formation de la gonade indifférenciée</i>	450
C. <i>Différenciation sexuelle : édification de l'ovaire et du testicule</i>	452
D. <i>Discussion</i>	457
II. — DÉVELOPPEMENT DES VOIES GÉNITALES.....	458
A. <i>Le canal de Müller</i>	458
B. <i>Le canal de Wolff et le mésonéphros</i>	464
III. — DÉVELOPPEMENT DES ORGANES COPULATEURS.....	465
CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE.....	470

*Deuxième partie :*RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE DÉVELOPPEMENT
DE L'APPAREIL GÉNITAL PENDANT LA VIE EMBRYONNAIRE

I. — RECHERCHES SUR LE RÔLE DES GONADES EMBRYONNAIRES DANS LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE	471
A. <i>Expériences de greffes</i>	471
1. Historique.....	471
2. Greffes de régions cloacales.....	472
3. Greffes de troncs	476
B. <i>Expériences de castration</i>	481
1. Historique.....	481
2. Protocole expérimental et résultats généraux.....	481
3. Etude de l'appareil génital.....	482
4. Discussion.....	483
C. <i>Résumé du chapitre I</i>	484
II. — EFFETS DES HORMONES STÉROÏDES SUR L'ORGANOGENÈSE DE L'APPAREIL GÉNITAL	485
A. <i>Historique</i>	485
B. <i>Relation des expériences</i>	487
1. Administration d'hormones œstrogènes	487
2. Administration d'hormones androgènes	490
3. Administration d'un mélange d'hormones.....	494
C. <i>Discussion</i>	495
D. <i>Résumé du chapitre II</i>	497
III. — EFFETS DES GONADOSTIMULINES HYPOPHYSAIRES SUR L'ORGANOGENÈSE DE L'APPAREIL GÉNITAL	497
A. <i>Historique</i>	497
B. <i>Protocole expérimental</i>	498
C. <i>Relation des résultats</i>	499
D. <i>Discussion</i>	505
E. <i>Résumé du chapitre III</i>	506
IV. — EFFETS DES GONADOSTIMULINES HYPOPHYSAIRES ASSOCIÉES AUX HORMONES STÉROÏDES SUR L'ORGANOGENÈSE DE L'APPAREIL GÉNITAL.....	507
A. <i>Protocole expérimental</i>	507
B. <i>Relation des résultats</i>	508
1. Association des gonadostimulines à une hormone androgène....	508
2. Association des gonadostimulines à une hormone œstrogène....	509
C. <i>Discussion</i>	515
D. <i>Résumé du chapitre IV</i>	516
V. — EFFETS DE L'HYPOPHYSECTOMIE SUR LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE.....	517
A. <i>Historique</i>	517
B. <i>Protocole expérimental</i>	518
C. <i>Relation des résultats</i>	518
D. <i>Discussion</i>	520
E. <i>Résumé du chapitre V</i>	520
CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE.....	521
RÉSUMÉ	525

INTRODUCTION

Les travaux d'Embryologie descriptive ont permis de découvrir, dès la fin du siècle dernier, la bipotentialité sexuelle de l'embryon des Vertébrés, au moins dans ses bases anatomiques. Mais les facteurs génétiques de la différenciation du sexe n'ont pas été entrevus avant 1914 avec WITSCHI, et de même a-t-il fallu attendre l'interprétation du *free-martin* des Bovidés donnée par LILLIE, en 1916, pour reconnaître son mécanisme hormonal. Les méthodes de raisonnement et les techniques de la Génétique et de l'Endocrinologie devaient, dès lors, concourir à la connaissance du phénomène de la différenciation du sexe.

Les recherches se sont rapidement développées dans ces voies nouvelles. Les concepts qu'elles ont conduit à formuler paraissent, dans leurs grandes lignes au moins, solidement acquis. Exposés par K. PONSE (1949) dans une mise au point générale, puis largement discutés à l'occasion d'un Colloque réuni en 1950 à Paris, ils peuvent désormais être brièvement résumés. L'embryogenèse des Vertébrés comporte une phase sexuelle bipotentielle, caractérisée par la présence simultanée de territoires à destinées différentes, mâle pour les uns et femelle pour les autres (cortex et médulla dans la gonade, canal de Müller et canal de Wolff pour le tractus génital). L'édification de ce double système est la conséquence d'un équilibre, plus ou moins fugace, entre des facteurs génétiques, les uns masculinisants, les autres féminisants. La rupture de cet équilibre entraîne la différenciation sexuelle de la gonade par le développement accéléré du territoire de sexe homologue (c'est-à-dire correspondant au sexe génétique). La gonade dirige ensuite la différenciation du tractus génital par le jeu de stimulations et d'inhibitions, desquelles résultent le maintien et le développement des territoires homologues, ainsi que la régression des territoires hétérologues.

Nous savons que l'ADN des gènes portés par les chromosomes commande, par l'intermédiaire d'un ARN messager, des synthèses successives qui conduisent à l'élaboration de substances douées de capacités morphogénétiques ou substances inductrices. En ce qui concerne la fonction de la gonade, ces mécanismes fondamentaux ne sont pas encore connus avec précision, mais il est parfaitement établi qu'au terme de ces synthèses sont produites des hormones embryonnaires, sur la nature desquelles nous possédons des documents nombreux, sinon concordants. La découverte des stéroïdes, hormones élaborées dans la gonade de l'adulte, constitue en ce domaine un apport essentiel. L'administration d'hormones stéroïdes a permis d'obtenir des phénomènes d'intersexualité plus ou moins accentués dans la gonade de quelques Amniotes (DANTCHAKOFF, 1935; WILLIER et coll., 1935 et ET. WOLFF et GINGLINGER, 1935, chez les

Oiseaux; BURNS, 1950, chez l'Opossum), et surtout, depuis les premiers résultats de GALLIEN (1937), l'inversion complète du phénotype sexuel de différents Batraciens. Ces faits constituent une forte présomption en faveur de l'intervention des stéroïdes dans les phénomènes envisagés. Mais l'isolement et l'analyse des hormones embryonnaires se sont heurtés à de très sérieuses difficultés. A l'heure actuelle, différentes méthodes histo-chimiques permettent de surmonter en partie ces échecs. D'autre part, WENIGER (1965) a annoncé très récemment qu'il avait extrait un stérol phénolique de l'ovaire de l'embryon de Poulet. Il paraît maintenant établi que des hormones stéroïdes peuvent être synthétisées par la gonade pendant la période embryonnaire, mais il est encore difficile de fixer avec précision le moment auquel ces substances apparaissent.

Néanmoins, la théorie stérolique se heurte encore à différentes objections (WITSCHI, 1950; PADOA, 1950; GALLIEN, 1959), dont la plus sérieuse se rapporte aux Mammifères placentaires. Dans ce groupe, l'expérimentateur n'a pu encore provoquer aucun phénomène d'intersexualité dans la gonade. A titre d'exemple, JOST et coll. (1963) administrent de la testostérone à l'embryon de Veau, mais modifient seulement l'évolution de l'appareil génital externe et des canaux de Wolff, alors que l'effet free-martin, découvert précisément chez cette espèce, se manifeste sur la gonade et le tractus müllérien.

Il est probable que nos connaissances sont encore limitées à un nombre trop restreint d'espèces, pour pouvoir comprendre et surmonter ces contradictions. En exprimant cette opinion, nous suivons les conclusions formulées par DODD (1960) (1). A cet égard, les lacunes les plus importantes dans nos connaissances concernent, semble-t-il, les Reptiles, « ces parents pauvres de l'Embryologie » comme les définit si justement PASTEELS (1962). Ceci est d'autant plus regrettable que les Reptiles occupent une place privilégiée dans l'évolution des Vertébrés, assurant le lien phylogénétique entre les Batraciens et les Amniotes supérieurs, Oiseaux et Mammifères.

Aussi avons-nous été incité à entreprendre l'étude d'un reptile, dans ce domaine de l'organogenèse sexuelle. Notre choix s'est porté sur le Lézard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin), Lacertilien abondant dans le Massif Central et facile à récolter. Lorsque nous commençons ce travail, en 1959, A. RAYNAUD publiait les premiers résultats de ses

(1) « Computations by MAIR, LINSLEY and USINGER (1953) have established that there are approximately 20 000 species of fish and 6 000 species of Amphibia and Reptiles. Against this back-ground of numbers, the work reported above is obviously too inadequate to justify some of the wide generalizations that have frequently been made concerning sex determination. There has been a tendency to expect results that would be universally applicable to these old and diversified groups of animals and this way well have responsible for some of the rather sterile discussion that has characterized certain aspects of this field of research » (p. 40).

recherches sur un autre Lacertilien indigène, l'Orvet (*Anguis fragilis* L.).

La classe des Reptiles groupe plusieurs rameaux évolutifs distincts. Aussi, ne faut-il pas s'étonner que les modalités de la différenciation du sexe ne soient pas identiques chez les Chéloniens, les Crocodiliens et les Squamates. Ces derniers, même, représentent un ensemble hétérogène qui renferme, de plus, des espèces très spécialisées.

Les recherches descriptives et expérimentales de FORBES (1938 *a* et *b*, 1939, 1940 *a* et *b*) sur *Alligator mississippiensis*, celles de RISLEY (1933 *b*, 1941) sur la Tortue *Sternotherus odoratus*, de VIVIEN (1959) et de STEPHAN (1963) sur une autre Tortue, *Emys leprosa*, démontrent qu'il existe chez les Crocodiliens et les Chéloniens une bipotentialité sexuelle qui se prolonge plusieurs mois après la naissance.

Au contraire, cet état bipotentiel est plus fugace chez les Squamates et ne dépasse pas, en tout cas, la période embryonnaire. Les recherches de BRAUN (1877), de MIHALKOWICS (1885) et d'HOFFMANN (1889), sur le développement de l'appareil uro-génital de différents Sauriens et Ophiidiens indigènes, ne laissent pas de doute à ce sujet. De même, peu de cas d'intersexualité spontanée ont été signalés chez l'adulte. Les quelques observations relevées dans la littérature mentionnent surtout la persistance de canaux de Müller plus ou moins complets chez des individus mâles. C'est ce que notent, en particulier, LEYDIG (1872) chez *Lacerta agilis* et *Anguis fragilis*, BRAUN (1877) chez *Lacerta agilis*, SCHOOF (1888) chez *Lacerta viridis* et *Stellio vulgaris*, HILL (1893) chez un lézard australien *Amphibolurus muricatus*, JACQUET (1895) chez *Lacerta agilis*, TAYLER (1918) chez *Lacerta viridis*, LANTZ (1923) chez *Lacerta saxicola*, REGAMEY (1931) et G. T. DORNESCU et M. DORNESCU (1960) chez *Lacerta viridis*, FORBES (1941) chez *Sceloporus*. Ces phénomènes d'intersexualité existent encore plus rarement dans les gonades : seul TAYLER (1918) a signalé chez un mâle adulte de *Lacerta viridis* la présence de véritables ovotestis. Quelques persistances hétérosexuelles sont signalées chez les femelles sous la forme de vestiges mésonéphrétiques. SCHOOF (1888) les a étudiées chez différentes espèces, et REGAMEY (1935) signale leur présence chez des femelles adultes de *Lacerta agilis*. Ces persistances ne paraissent pas avoir une signification importante.

Dans ce même groupe de Squamates, les travaux expérimentaux étaient peu nombreux et, en outre, contradictoires, avant que nous n'entreprissions nos recherches. DANTCHAKOFF (1937, 1938) avait réussi, en injectant de la folliculine à de jeunes embryons de Léopard, à modifier de façon importante le phénotype sexuel du mâle, alors que chez un Serpent, HARTLEY (1945) n'avait obtenu que des transformations beaucoup plus atténuées. Que ce soit dans ce groupe ou chez les autres Reptiles étudiés, il faut souligner que les différents auteurs n'ont guère tenté de mener une expérimentation originale, embrassant les différents aspects de la

différenciation sexuelle, pour ne parler même que de ses aspects endocriniens. Au moyen d'injections d'hormones stéroïdes, ils se sont généralement attachés à confirmer la bipotentialité du sexe, mise en évidence par une expérimentation plus approfondie menée chez d'autres groupes de Vertébrés.

Plus succinctes encore sont nos connaissances sur le déterminisme génétique de l'organogenèse sexuelle des Reptiles. Si certains auteurs admettent l'hétérogamétie du sexe femelle (DANTCHAKOFF, 1937; DANTCHAKOFF et KINDÉRIS, 1938), cette opinion ne repose sur aucune preuve cytologique ou expérimentale (MATTHEY, 1949).

L'anatomie de l'appareil uro-génital du Lézard vivipare adulte a été décrite par LEYDIG (1872), mais son développement n'a pas fait l'objet de recherches détaillées. Chez cette espèce, bien connue à différents aspects, la seule observation d'une anomalie sexuelle spontanée est rapportée par FRANKENBERGER (1923). L'auteur note la présence d'ovocytes dans les testicules d'un mâle adulte. Ces cellules ne proviennent pas de la persistance et de la différenciation d'éléments corticaux, car elles apparaissent dans les tubes séminifères eux-mêmes. Ce faible degré d'intersexualité doit résulter de conditions endocrines particulières, apparues chez l'adulte, plutôt que d'une perturbation survenue pendant l'embryogenèse. La stabilité sexuelle, qui est la règle chez les Squamates, paraît, d'après l'examen de la littérature, particulièrement forte chez *Lacerta vivipara*, en particulier si on le compare à *Lacerta viridis* chez lequel des anomalies ont été signalées par plusieurs auteurs.

Nos recherches portent sur le développement normal de l'appareil génital et son analyse expérimentale. Des travaux préliminaires ont dû être effectués, en particulier en ce qui concerne les modalités générales du développement embryonnaire, jusqu'alors mal connues. De même, l'expérimentation a requis la mise au point de procédés particuliers, consistant surtout à appliquer au matériel reptilien les techniques utilisées chez d'autres Vertébrés. Ces points sont développés au chapitre *Matériel et Méthodes*.

Une première partie de ce Mémoire traite de l'édification et de l'évolution embryonnaire de l'appareil génital, puis des grandes lignes de l'évolution post-natale jusqu'à l'acquisition de la fonction de reproduction. Les gonades, les canaux de Müller et les tubercules génitaux retiennent surtout notre attention.

Dans une deuxième partie, nous cherchons à établir les relations qui existent entre les différents territoires et dont l'ensemble constitue le phénomène de la différenciation du sexe. Le rôle joué par les gonades dans l'évolution des canaux de Müller, et surtout des tubercules génitaux, est recherché par les méthodes directes des greffes, parabioses et castration. Ensuite, est abordé indirectement le problème de la nature des inducteurs sexuels. Les effets d'hormones stéroïdes, d'extraits hypo-

physaires et de traitements faisant intervenir à la fois ces deux types de substances, selon différentes séquences, sont successivement examinés. Les effets morphogénétiques manifestés par les hormones hypophysaires conduisent à se demander si l'hypophyse embryonnaire joue un rôle précoce dans la différenciation du sexe. La suppression de l'hypophyse permet de répondre à cette question.

Nous regrettons de n'avoir pu aborder dans ce travail l'aspect génétique de la différenciation du sexe chez le Lézard vivipare. Cette étude constitue l'un de nos projets de recherches.

Ainsi, est-il possible désormais de mieux connaître, et d'interpréter, la causalité des phénomènes successifs qui conduisent à l'édification de l'appareil reproducteur chez le Lézard vivipare. Nous souhaitons que ces recherches soient étendues à d'autres espèces, afin de parvenir à une meilleure compréhension du groupe des Reptiles.

Ces recherches ont été effectuées au Laboratoire de Biologie animale de la Faculté des Sciences de Clermont-Ferrand. Il m'est agréable d'exprimer à M. le Professeur H. LUTZ, qui m'a confié le sujet de ce travail, ma profonde et respectueuse reconnaissance. Je remercie très vivement M^{lle} S. CHARBONNEL qui m'a aidé avec dévouement et compétence dans la réalisation matérielle de ce travail.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. — MATÉRIEL : le Lézard vivipare du Massif Central, *Lacerta (Zootoca) vivipara* Jacquin.

Ce Lézard est présent dans toute l'Europe moyenne et septentrionale. Il remonte jusqu'au cercle polaire arctique et se rencontre en altitude (jusqu'à 3 000 m dans les Alpes, d'après ANGEL, 1946). Cette faculté d'adaptation aux climats froids, peu commune chez les Reptiles puisqu'il ne la partage qu'avec *Vipera berus*, est probablement la raison de la réussite de cette espèce et de son abondance sur nos reliefs montagneux.

Dans le Massif Central, le Lézard vivipare est fréquent sur les pelouses alpines, autour des lacs, au voisinage des tourbières (ANGEL, 1927; CANTUEL, 1949; PANIGEL, 1956). D'après l'étude effectuée par ANGEL (1927) dans le département du Puy-de-Dôme, le Lézard vivipare du Massif Central est semblable aux individus provenant d'autres régions et ne constitue pas une race géographique particulière.

A. RAPPEL SUR L'ANATOMIE ET LA PHYSIOLOGIE SEXUELLES DE L'ADULTE

L'anatomie de l'appareil reproducteur de nos lézards indigènes est bien connue. Pour le Lézard vivipare, les données essentielles sont dues à LEYDIG (1872); la structure de l'appareil mâle a été étudiée par HERLANT (1933) et celle de l'ovaire

et de l'oviducte par PANIGEL (1956). GADOW (1888), dans son travail sur le cloaque et les organes copulateurs des Amniotes, propose une terminologie pour les différentes régions du cloaque, et montre que les organes copulateurs des Squamates sont homologues de ceux des autres Amniotes. D'autres précisions sur le cloaque et les organes copulateurs sont données par UNTERHÖSSEL (1902).

Aucune véritable anomalie n'a été observée au niveau de l'appareil génital mâle. Il n'existe pas de persistance müllérienne analogue à celles qui ont été signalées chez d'autres Lacertiliens (LEYDIG, 1872; BRAUN, 1877; HOWES, 1887; SCHOOF, 1888; HILL, 1893; JACQUET, 1895; TAYLER, 1918; LANTZ, 1923; REGAMEY, 1931; FORBES, 1941; DORNESCU et DORNESCU, 1960). Cependant, certains mâles présentent en avant de l'épididyme des nodules ou de fins filets, vestiges discrets des formations müllériennes. Différents contrôles histologiques n'ont pas révélé l'existence d'anomalies dans le testicule de ces individus.

Parmi plusieurs centaines d'individus autopsiés, deux femelles seulement ont montré un appareil génital aberrant. Ces animaux, de morphologie normale, adultes (longueur museau-cloaque respectivement de 45 et 50 mm) présentaient, à la dissection, des ovaires rudimentaires : la glande fusiforme, lisse, était dépourvue de tout renflement folliculaire. L'étude histologique a révélé l'existence d'une grande cavité centrale, entourée d'une enveloppe de tissu fibreux qui se projette dans la cavité sous la forme de travées plus ou moins anastomosées. Néanmoins, on reconnaît les deux bandelettes corticales qui caractérisent l'ovaire embryonnaire; elles occupent une faible superficie de la surface ovarienne. Aucune structure hétérosexuelle ne s'est développée dans cette gonade. Les oviductes étaient normaux. Il n'y avait aucune trace d'organes copulateurs. Les mésonéphros avaient complètement régressé dans un cas, mais subsisté dans l'autre (femelle de 50 mm). Cette persistance tout à fait anormale à cet âge (les animaux ont certainement plus de 3 ans) est le seul indice d'une aberration sexuelle du tractus génital, caractérisée, par ailleurs, chez les deux individus par un blocage de l'ovaire à un stade jeune.

Nous n'avons pas étudié en détail le cycle sexuel de cette espèce. Le cycle du mâle est suffisamment connu par les données de HERLANT (1933), l'évolution de l'ovaire et celle de l'utérus au moment de la reproduction par le travail de PANIGEL (1956).

Dans le Puy-de-Dôme, l'accouplement a généralement lieu au mois d'avril. Il est suivi quelques semaines plus tard par l'ovulation qui se situe suivant les années (et aussi suivant les individus) entre la fin du mois de mai et le milieu du mois de juin. La gestation dure environ deux mois. Ses modalités sont désormais bien connues (PANIGEL, 1956). Rappelons qu'il s'agit d'une simple rétention des œufs dans l'utérus (ovoviviparité), les échanges fœto-maternels étant probablement limités au passage des gaz. La parturition a lieu vers la fin du mois de juillet ou dans le courant du mois d'août. Alors, éclosent quelques minutes après la ponte de petits lézards complètement développés et capables de mener une vie autonome.

B. RÉCOLTE ET CONDITIONS DE CAPTIVITÉ

En général les femelles sont récoltées très régulièrement une ou deux fois par semaine pendant la période de gestation et utilisées dans les jours suivant immédiatement la capture. Dans ces conditions, il suffit de les installer dès le retour au laboratoire dans de petits aquariums de verre dont le fond est garni de mousse humide, récipients disposés dans un endroit frais.

C. TABLE CHRONOLOGIQUE DE DÉVELOPPEMENT

Nous avons réalisé une table de développement, semblable à celles déjà établies pour certaines espèces de Batraciens et d'Oiseaux utilisées dans les recherches expérimentales (DUFAYRE et HUBERT, 1961). 40 stades sont distingués depuis la segmentation jusqu'à la naissance des jeunes individus. Cette sériation est largement utilisée dans le présent travail.

II. — TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

A. RÉCOLTE ET PRÉPARATION DES ŒUFS

Les femelles gestantes sont sacrifiées par décapitation et fixées sur une petite table d'opération en liège. Le ventre est abondamment nettoyé au mélange éther-alcool, puis incisé pour mettre à nu les utérus. Chaque utérus est prélevé et transporté dans une coupelle contenant de la solution physiologique de Tyrode.

Les œufs sont extraits avec précaution de l'utérus, dans le liquide physiologique. Alors, ils sont débarrassés des enveloppes protectrices, membrane coquillière et membrane vitelline, au moyen de pinces fines. Le vitellus, très compact, s'étale un peu mais garde toute sa cohésion, et l'œuf ainsi mis à nu peut être transporté sur une spatule dans le récipient de culture sans subir aucun dommage. Cette consistance particulière du vitellus, due principalement à une cohésion très forte de sa couche superficielle, facilite grandement les interventions.

Les portées (1) renferment un nombre moyen de 7 à 10 œufs, approximativement au même stade. Chacune d'entre elles constitue donc un lot naturel d'individus pouvant subir un même traitement et pour lequel les effets seront comparables. Dans la plupart des expériences, les différents lots sont divisés en deux, une partie des embryons faisant l'objet d'une intervention, l'autre laissée intacte mais élevée dans les mêmes conditions en tant que témoin.

B. MÉTHODES DE CULTURE

BELLAIRS (1951) a obtenu le développement de jeunes embryons de Reptiles *in vitro* (*Natrix natrix*, *Vipera berus*, *Lacerta vivipara* et *Anguis fragilis*).

LUTZ et DUFAYRE (1960) ont montré que les jeunes embryons, le mésonéphros, les gonades embryonnaires de Léopard vivipare peuvent être cultivés sur le milieu standard de WOLFF et HAFEN (1952). RAYNAUD et RAYNAUD (1962) utilisent des méthodes de culture d'organes *in vitro* sur des milieux entièrement synthétiques, pour étudier l'évolution de fragments d'embryons d'Orvet.

(1) Deux remarques doivent être faites. Pour une raison mal connue, quelques portées sont constituées par des embryons qui sont à des stades assez différents. Ce phénomène a d'ailleurs été noté, chez cette même espèce, par MOFFAT et BELLAIRS (1964). D'autre part, si dans les différentes portées la proportion des sexes est voisine de 50 % de mâles et 50 % de femelles, quelques portées ont un rapport très déséquilibré en faveur de l'un ou de l'autre sexe, ou ne peuvent même contenir que des embryons appartenant à un seul sexe, mais ce dernier cas est très rare. Des observations semblables ont été effectuées par RAYNAUD (1960 a) chez l'Orvet. Ces faits doivent être pris en considération dans l'interprétation des résultats.

Pour pouvoir intervenir sur des embryons assez âgés, dans des conditions se rapprochant le plus des conditions naturelles, il nous a paru indispensable de pouvoir cultiver les œufs eux-mêmes. Les résultats de PANIGEL (1956) et ceux de A. RAYNAUD (1959 *a* et *b*) nous encourageaient dans ce sens.

Nous avons pensé, pour différentes raisons, à utiliser l'albumine. Cette substance est employée par NEW (1955) pour cultiver des blastodermes d'Oiseaux et, récemment, VAKAET et PINTELON (1959) l'ont proposée comme constituant de base d'un milieu de culture d'organes. Elle entre, aussi, dans la composition du milieu de RAYNAUD (1959 *a*). L'albumine présente trois avantages : c'est un milieu naturel, mais néanmoins neutre; sa viscosité particulière permet à l'œuf

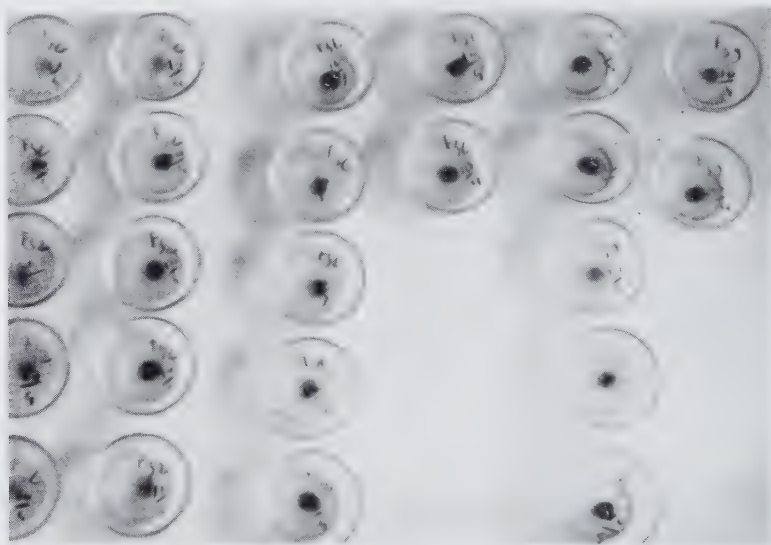


FIG. 1. — Batterie de coupelles contenant des œufs en expérience, cultivés *in vitro* sur albumine.

de conserver une forme à peu près normale hors de ses membranes protectrices; enfin, elle est riche en substances antibiotiques, et présente, ainsi, une certaine résistance contre l'infection. Les réipients de culture sont des coupelles de verre de la marque « Duralux », de forme hémisphérique, à fond plat, d'une contenance d'environ 20 cm³ et 2 à 3 cm³ d'albumine d'œuf de Poule, récemment pondue, sont prélevés au moyen d'une pipette stérile et versés dans le fond des coupelles. Un œuf de Lézard, préparé comme il a été indiqué plus haut, est déposé dans chaque coupelle (fig. 1). La fermeture hermétique est assurée par un disque de verre luté avec de la paraffine, ou au moyen d'une graisse spéciale à base de silicones qui facilite les fréquentes manipulations ultérieures. En effet, les coupelles sont ouvertes tous les 4 ou 5 jours pour permettre le renouvellement de l'air. Les coupelles sont conservées à l'obscurité à une température sensiblement constante, voisine de 25°. Dans ces conditions, les embryons peuvent se développer hors de l'organisme maternel pendant des périodes relativement longues, de deux à quatre semaines environ.

C. TECHNIQUES CHIRURGICALES

1. *Greffes*. — NAKAO (1939) (1) a greffé des organes embryonnaires de Lézard sur la membrane chorio-allantoïdienne de l'embryon de Poulet, avec un succès variable. Au contraire, des greffes homologues de ce type n'avaient jamais été effectuées chez les Reptiles, jusqu'à ce que nous mettions au point cette intervention (DUFAYRE, 1964 *f* et *g*).

Le greffon est constitué par la région cloacale, ou par le tronc. La préparation du transplant (fig. 2 A) s'effectue, après avoir extrait l'embryon de l'œuf, dans une coupelle contenant du liquide de Tyrode. Puis la pièce est transportée sur

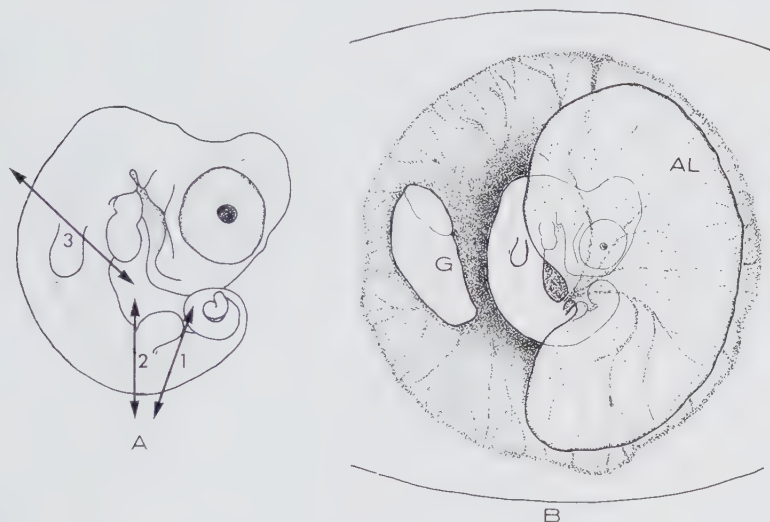


FIG. 2. — Technique des greffes.

A. Préparation du greffon. Le donneur est au stade 31. Le greffon de région cloacale est délimité par les sections 1 et 2, le greffon de tronc par les sections 1 et 3.

B. Schéma de l'opération de greffe. Le porte-greffon est au stade 31. La séreuse et l'amnios ne sont pas représentés.

AL : allantoïde; G : greffon.

une petite spatule jusqu'à l'endroit où elle est déposée (fig. 2 B). Des hôtes d'âge variable ont été choisis entre le stade 28 et le stade 34. Nous mettons en pratique le principe proposé par WOLFF et LUTZ (1939) pour l'embryon de Poulet : il consiste, après avoir fendu la séreuse pour introduire la pièce dans la cavité séro-amniotique, à déposer le greffon contre l'allantoïde. L'annexe, lors de sa croissance, enveloppe le greffon puis l'entraîne contre la séreuse (greffe chorio-allantoïdienne) ou contre la vésicule ombilicale (greffe omphalo-allantoïdienne). Vers les stades 32 et 33, l'allantoïde finit de recouvrir l'aire embryonnaire, mais du côté faisant face à la région dorsale de l'embryon, qui est atteint

(1) Cité par HOLDER et BELLAIRS, 1962.

en dernier, elle est encore lâchement appliquée contre la vésicule ombilicale. On peut alors, après avoir déchiré la séreuse, en décollant avec précaution l'allantoïde, ménager entre cette dernière et la vésicule ombilicale une poche dans laquelle on introduit le greffon.

2. *Hypophysectomie*. — A la suite de FUGO et WITSCHI (1938) pour l'embryon d'Oiseau et de JOST (1947 *b*) pour l'embryon de Mammifère, RAYNAUD (1962 *d*) a préconisé la décapitation comme méthode de suppression de l'hypophyse chez un embryon de Reptile, l'Orvet.

Nous avons choisi les stades 24, 25 et 26 pour effectuer cette intervention chez le Lézard vivipare. Nous avons opéré sur des œufs complètement débarrassés des membranes coquillières et vitellines. Le chorion et l'amnios sont déchirés avec précaution au-dessus de la tête, et les branches terminales d'une paire de

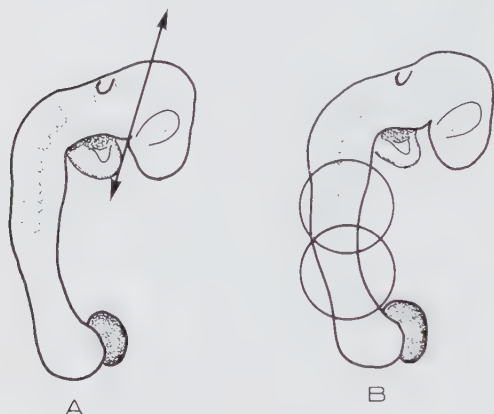


FIG. 3.

Schéma de différentes interventions.

A. Décapitation.

B. Irradiation. Les cercles délimitent les deux zones successivement irradiées.

Les embryons sont représentés au stade 25-26.

ciseaux de Pascheff-Wolff introduites par cette ouverture. La tête est sectionnée franchement au moyen des ciseaux, suivant un plan passant entre l'ébauche de la mâchoire supérieure et l'arc mandibulaire, et atteignant le cerveau à peu près au niveau du mésencéphale (fig. 3 A). L'extrémité antérieure de la tête est saisie avec des pinces fines, puis extirpée. Une faible hémorragie suit l'intervention, néanmoins plus importante lorsque cette dernière est effectuée au stade 26. Il ne paraît pas indispensable de chercher à l'interrompre, et le récipient de culture est immédiatement refermé. Le lendemain l'embryon a légèrement pâli, mais le stock sanguin est restauré en quelques jours.

D. IRRADIATIONS

Elles ont été réalisées au moyen de l'irradiateur à rayons X Secasi (type I.S.R.) utilisant un tube à anticathode de tungstène. Les conditions d'utilisation sont les suivantes : tension de 30 kV pour 18 mA et 42 kV pour 14 mA, délimitation du faisceau de rayons par un collimateur circulaire de 1 mm de diamètre, distance du foyer à l'embryon d'environ 35 cm. La dosimétrie est effectuée à l'aide de la chambre à ionisation « Babyline » Nardeux E253. Les mesures ont donné les valeurs suivantes :

- pour 30 kV, 2 rads/heure;
- pour 42 kV, 2,4 rads/heure.

Nous avons, par ce moyen, cherché à détruire la région dans laquelle se forment les gonades. L'intervention est effectuée entre les stades 26 et 29, la mortalité étant trop importante chez les embryons plus jeunes. L'œuf est préparé pour la culture *in vitro*, puis l'embryon subit une, deux, ou trois irradiations successives, de cinq minutes chacune, dans la région du tronc comprise entre les ébauches du cœur et de l'allantoïde, en le déplaçant légèrement après chaque irradiation, de telle sorte qu'un nouveau territoire soit atteint par le faisceau (fig. 3 B).

E. INJECTIONS

Les premières injections ont été réalisées avec des seringues à insuline, mais ces instruments se sont révélés trop imprécis, eu égard aux faibles doses d'hormones qui devaient être administrées. Nous avons utilisé, depuis, les seringues fabriquées par la Hamilton Company, graduées en microlitres et destinées à des dosages microchimiques. Ce matériel est satisfaisant du point de vue de la précision des injections et de la facilité de lecture des doses administrées, ce qui compense largement les dimensions assez peu commodes des instruments et certaines difficultés à introduire les liquides huileux qui servent habituellement de solvants aux hormones stéroïdes.

Les hormones ont été déposées en différents sites : dans la cavité amniotique, dans l'allantoïde, dans le vitellus (sous l'embryon ou sous l'aire extra-embryonnaire.

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES DESCRIPTIVES

SUR LE

DÉVELOPPEMENT DE L'APPAREIL GÉNITAL

I. — FORMATION DE LA GONADE ET DES CONNEXIONS URO-GÉNITALES

A. ÉVOLUTION DES GONOCYTES PRIMORDIAUX

Des recherches, effectuées en collaboration avec HUBERT (1965), ont montré que, chez le Léopard vivipare, les gonocytes primordiaux ont une origine extra-embryonnaire. Contrairement à ce qui a été décrit chez d'autres Lacertiliens (PASTEELS, 1953), la migration ne s'effectue pas par voie sanguine mais par voie interstitielle. Ce mode de migration, bien connu chez les Chéloniens (ALLEN, 1906 a; RISLEY, 1933 a), pouvait être soupçonné chez certains Lacertiliens : JARVIS (1908), GASPARRO (1908). Il est par ailleurs regrettable que les observations de

BERENBERG-GOSSLER (1914) aient conduit cet auteur à une interprétation aberrante (les grosses cellules migratrices seraient pour lui des initiales mésodermiques !) qui a fait douter de leur sérieux (PASTEELS, 1962), alors qu'il avait incontestablement observé chez *Lacerta agilis* des gonocytes émigrant par voie interstitielle.

Du stade 27 au stade 29, les gonocytes primordiaux envahissent les territoires présomptifs des gonades. A ces stades, les éléments germinaux se reconnaissent parfaitement grâce à leur morphologie particulière : grande cellule sphérique à volumineux noyau, également sphérique, dont le contenu clair met en relief la présence d'un gros nucléole.

Aucune différenciation particulière ne se remarque encore au niveau de l'ébauche présomptive des gonades. La crête génitale n'est pas dessinée et l'épithélium coelomique situé de part et d'autre de la racine du mésentère présente une structure banale d'épithélium unistratifié, à cellules très aplaties. Quelques rares gonocytes se sont glissés entre les cellules de l'épithélium coelomique ou plutôt s'enfoncent comme des coins dans ce tissu dont l'épaisseur est très inférieure à leur diamètre, alors que la plupart d'entre eux demeurent au-dessus de l'assise épithéliale, mêlés à quelques éléments mésenchymateux.

B. FORMATION DE LA GONADE INDIFFÉRENCIÉE

Les crêtes génitales s'édifient à peu près au stade 30. De part et d'autre de la racine du mésentère, l'épithélium coelomique s'infléchit légèrement en direction de la cavité générale. Ces formations, très étendues dans le sens antéro-postérieur, ont une largeur d'environ 50 μ . Il semble qu'une prolifération précoce de l'épithélium péritonéal, accompagnée d'une coulée du matériel cellulaire en direction dorsale, assure l'édification des tissus qui constitueront une partie de la médulla de la gonade, les cordons du *rete* et le cortex surrénal. Notons cependant que les mitoses ne sont pas très abondantes au niveau de l'épithélium péritonéal. Notre interprétation correspond à celles de nombreux auteurs : ALLEN (1906 b) chez la Tortue *Chrysemys marginata* (« funnel-cords »), RISLEY (1933 b) chez un autre Chélonien *Sternotherus odoratus*, FORBES (1940 a) chez *Alligator mississippiensis* et chez un Lacertilien (1956) *Anolis carolinensis*, BIMMER (1950) chez *Lacerta vivipara*, MARIN et SABBADIN (1959) chez *Lacerta sicula campestris*. Au contraire, pour BRAUN (1877), WELDON (1885), MIHALKOWICS (1885), HOFFMANN (1889) et PETER (1904), qui ont travaillé en particulier sur le genre *Lacerta* (*L. agilis*, *L. muralis*), les cordons du *rete* et le cortex surrénal sont d'origine mésonéphrétique. Pour A. RAYNAUD, chez l'Orvet, le cortex surrénal se forme par essaimage précoce au niveau d'un corpuscule de

Malpighi, avec peut-être la participation d'une prolifération de l'épithélium péritonéal (1962 *b*, *c*) qui semble assurer, par ailleurs, l'édification du tissu médullaire de la gonade (1960 *a*). La participation éventuelle d'éléments mésonéphrétiques, chez le Lézard vivipare, ne peut être affirmée ou niée.

Dans la suite du développement, les deux bords de la crête génitale se rapprochent, et ainsi se dessine une poche qui se trouve suspendue dans le cœlome par un *mesogonium*. L'épithélium péritonéal, que l'on

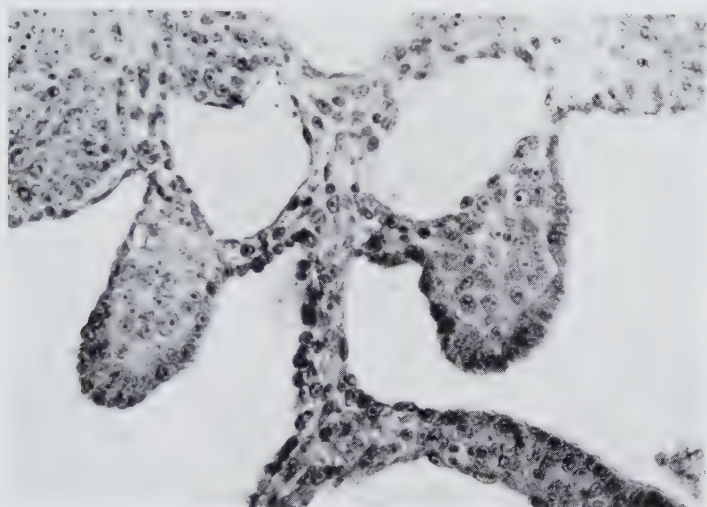


FIG. 4. — Coupe transversale dans un embryon au stade 31-32.
Gonades indifférenciées ($\times 300$).

peut maintenant distinguer des assises sous-jacentes, s'épaissit rapidement et forme un cortex (fig. 4). Puis, très rapidement, apparaissent des irrégularités. Le cortex forme des massifs d'épaisseur différente que l'on repère sur une même coupe, ou plus fréquemment en étudiant la succession des coupes en section transversale. Tout paraît indiquer qu'il y a un nouvel essaimage des assises superficielles vers l'intérieur de la gonade. Il ne se fait pas sous la forme de cordons définitifs, mais plutôt de petits groupes cellulaires qui fusionnent et se réorganisent par la suite en cordons. L'existence de ce remaniement est au moins certaine en ce qui concerne les futurs cordons testiculaires. La genèse de ces formations, analogues aux « sex-cords » des auteurs anglo-saxons, s'effectue aux stades 31 à 32. La reprise (ou la continuation) des mouvements de migration en profondeur du matériel superficiel contribue à l'édification définitive de la médulla.

L'édification des cordons médullaires correspond à la fin du stade indifférencié de la glande génitale, mais aussi du stade bipotentiel qui est donc extrêmement fugace, car dès le stade 33 l'orientation sexuelle de la gonade est reconnaissable. Les gonocytes primordiaux sont encore peu nombreux dans le cortex gonadique aux stades 31 et 32, la plupart d'entre eux étant situés dans la médulla. Au moment de la différenciation dans le sens femelle, il doit y avoir une multiplication active des gonocytes du cortex ou peut-être une migration des gonocytes médullaires vers la périphérie, mais celle-ci n'a pas été observée. Peu avant la différenciation sexuelle, les gonades se présentent comme d'étroits boyaux qui longent la face médio-ventrale des mésonéphros. Leur longueur est d'environ 1,5 mm.

En résumé, si une première poussée de l'épithélium péritonéal contribue à la formation de la glande cortico-surrénale, des cordons du *rete* et d'une partie de la médulla de la gonade, une poussée plus tardive assure l'édification définitive de la médulla par isolement de petits massifs cellulaires dont le réarrangement se traduit par l'édification des cordons sexuels (futurs cordons testiculaires).

Sur cette dernière question de la formation de la médulla gonadique, nos observations diffèrent fondamentalement de celles effectuées par BRAUN (1877), WELDON (1885), HOFFMANN (1889) et PETER (1904) pour lesquels des cordons segmentaires, provenant d'éléments mésonéphrétiques, pénètrent dans l'ébauche de la gonade. Elles correspondent plutôt à celles de ALLEN (1906 *b*) et de RISLEY (1933 *b*) chez des Chéloniens, de FORBES (1940 *a*) chez l'Alligator, de SIMKINS et ASANA (1930) et de FORBES (1956) chez des Lacertiliens, à cette différence près qu'il y a, chez le Lézard vivipare, un réarrangement des éléments médullaires, au moins dans le sexe mâle. Nous ne pensons pas qu'elles soient très différentes de celles de MIHALKOWICS (1885) et de A. RAYNAUD (1960 *a*) : suivant les espèces considérées, la prolifération corticale doit être plus ou moins diffuse.

C. DIFFÉRENCIATION SEXUELLE : ÉDIFICATION DE L'OVAIRE ET DU TESTICULE

La gonade indifférenciée, qui forme un boyau très allongé, se développe en épaisseur dans la région moyenne du tronc, plutôt vers la région caudale. Ses extrémités, antérieure et postérieure, restent minces mais ne disparaissent pas, constituant des prolongements qui longent la face médio-ventrale du mésonéphros et rattachent la gonade à cet organe. Vers les stades 34 et 35, des différences morphologiques apparaissent entre les sexes mâle et femelle.

1. EDIFICATION DE L'OVAIRE

Vers le stade 33 (fig. 5), l'ovaire paraît, sur une coupe transversale, plutôt allongé dans le sens dorso-ventral suivant un axe qui passe par le *mesovarium*. Le cortex, qui renferme encore un peu de gonocytes, est constitué par 2 ou 3 assises cellulaires. Son épaisseur n'excède pas $15\ \mu$. L'intérieur de la glande est surtout occupé par un tissu mésenchymateux lâche, en particulier dans la moitié ventrale. Du côté dorsal sont disposés, en effet, des cordons cellulaires rattachés latéralement au cortex (voir fig. 5) et qui convergent vers le *mesovarium* où ils rencontrent les éléments du *rete*. Ce sont les homologues des cordons testiculaires, mais leur aspect histologique est assez différent : ils sont plus étroits et les noyaux cellulaires sont disposés sans ordre dans un cytoplasme peu abondant. Latéralement, à différents niveaux, ces travées cellulaires sont en parfaite continuité avec le cortex et — mais cette observation est plus rare — paraissent émerger au niveau d'une zone d'invagination marquée par une encoche à la surface du cortex, encoche qui indique à peu près la limite entre les moitiés dorsale et ventrale de la glande. Il paraît difficile de contester l'origine corticale de ces formations. Aux endroits où il n'y a pas de prolifération, le cortex est limité du côté interne par une membrane.

Au stade 34, les mouvements de prolifération vers l'intérieur de la glande se poursuivent, et ainsi se constitue un massif dense qui remplace peu à peu les éléments mésenchymateux. Cette nouvelle prolifération corticale est plus diffuse et conduit à la mise en place d'un massif épithélial central sans structure bien définie.

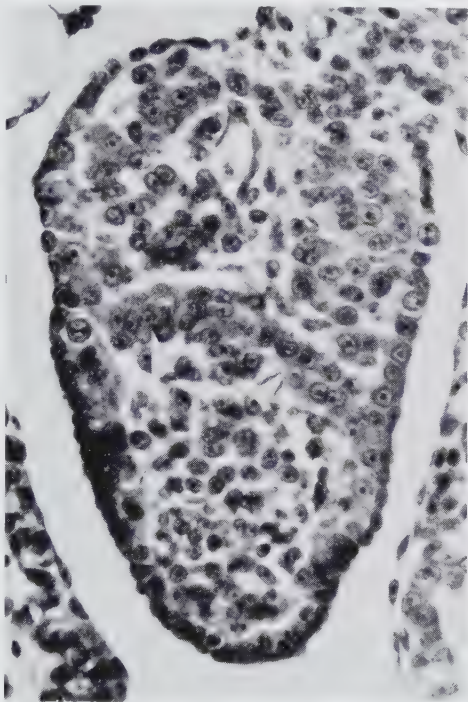


FIG. 5. — Coupe transversale dans un ovaire au stade 33. La médulla est désorganisée, mais on reconnaît des cordons de première poussée (flèches) ($\times 370$).

Le nombre de gonocytes corticaux, relativement faible jusqu'alors, augmente brusquement vers le stade 35 auquel apparaissent de nombreuses mitoses. Ainsi s'épaissit le cortex, suivant deux bandes latérales, la partie ventrale de la glande demeurant mince et dépourvue de cellules germinales. Les ovogonies restent groupées en « nids ». Les ovocytes entrent en prophase de méiose vers le stade 36.

Puis la glande change de forme. Sur une coupe transversale, elle paraît s'aplatir dorso-ventralement; elle est maintenant allongée suivant un axe perpendiculaire à l'axe passant par le *mesovarium*. Elle acquiert ainsi, extérieurement, la forme d'un disque. Ce faisant, les deux bandes corti-

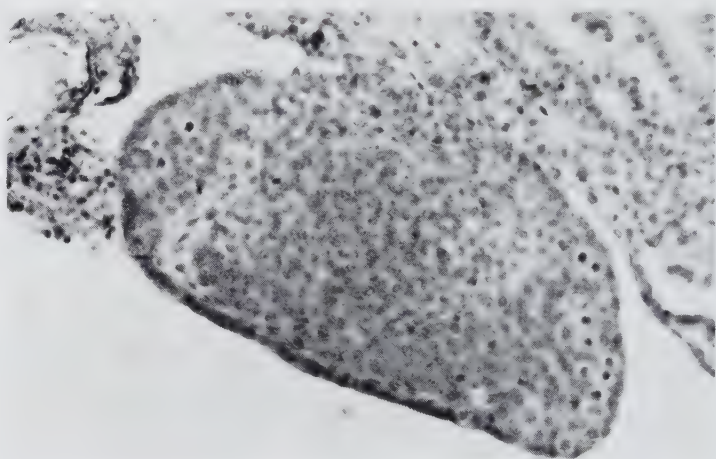


FIG. 6. — Coupe transversale dans un ovaire au stade 39 ($\times 230$).

cales latérales s'épaississent considérablement et le cortex paraît se détacher peu à peu du noyau épithélial central dont il sera séparé dans la région ventrale par un espace vide, à l'exception de quelques cellules mésenchymateuses. Cette morphogenèse s'effectue vers le stade 37. Il n'est en général plus possible à ce moment-là de distinguer les cordons médullaires ni ceux du *rete* qui sont probablement désorganisés.

Aux stades 39 et 40 (fig. 6), juste avant la naissance, le cortex forme deux bandelettes latérales, épaisses d'environ $80\ \mu$, séparées à la surface ventrale de l'ovaire par une assise unicellulaire dépourvue de gonocytes. Le long de la bandelette corticale, cette assise s'aplatit notablement et constitue l'enveloppe de la glande. Le cortex et la médulla sont réunis par de longues cellules d'aspect conjonctif dont le grand axe est disposé parallèlement à la surface de séparation; elles remplissent l'espace lacunaire qui était apparu précédemment. Il s'agit là d'un type moyen d'évo-

lution. En réalité, une certaine variabilité a été enregistrée en ce qui concerne, notamment, le stade de l'apparition des prophases méiotiques, l'existence d'une discontinuité entre le cortex et la médulla, la disparition des cordons formés aux premiers stades. De fait, il est possible de trouver tardivement dans la région antéro-dorsale de la glande de petits massifs de cellules somatiques et germinales, résultant certainement de la fragmentation des cordons médullaires, mais dont la structure histologique est très différente de celle d'un élément testiculaire.

Après la naissance, des changements importants affectent l'ovaire et, ceci, dès les premières semaines. A partir du stade 23 mm (longueur museau-cloaque), la partie centrale de la glande enfle de telle sorte que cette dernière perd la forme de disque qu'elle présentait avant la naissance. De même, un ou deux follicules apparaissent à la surface de l'ovaire; ils viennent se placer dans la région médiane comprise entre les deux bandelettes corticales. Progressivement, le nombre de follicules augmente, de même que leur taille. Enfin, chez les jeunes lézards âgés d'un an (longueur museau-cloaque de 40 à 43 mm), l'ovaire acquiert sa forme définitive; il est globuleux et paraît constitué par un amas de follicules de tailles très différentes.

2. EDIFICATION DU TESTICULE

Les massifs cellulaires que nous avons vus s'isoler à partir du cortex au stade 32 doivent se réorganiser rapidement. En effet, dès le stade 33 (fig. 7), la gonade renferme deux ou trois cordons allongés parallèlement suivant l'axe dorso-ventral de la glande et bien séparés les uns des autres par des éléments mésenchymateux. A l'exception de quelques points, peu nombreux, où leur extrémité ventrale paraît confondue avec les tissus superficiels, les cordons sont séparés du cortex. Le cortex est déjà réduit : une assise de cellules assez aplaties, renfermant quelques rares gonocytes, entoure la glande. Dans la région tout à fait postérieure où la taille de la gonade diminue brusquement, l'épaisseur du cortex devient plus importante, du fait de la présence de deux ou trois assises cellulaires.

Au stade 34, on reconnaît la structure typique d'un jeune cordon séminifère : il s'agit d'un syncytium, limité à l'extérieur par une membrane basale, et dont les noyaux occupent la périphérie, ménageant ainsi une vaste zone centrale, avec, çà et là, une spermatogonie.

Peu de changements interviennent par la suite. Les cordons se ramifient et au stade 40 (fig. 8) le testicule est constitué par un amas de cordons tassés les uns contre les autres; ils présentent, sur une section transversale, une forme approximativement circulaire, avec un diamètre d'environ 25 microns. Il est exceptionnel que, même à ces stades assez tardifs,

une lumière centrale apparaisse dans les éléments séminifères (elle se forme tout au plus dans un ou deux d'entre eux). Il n'a pas été possible, avec les techniques histologiques courantes, de reconnaître du tissu interstitiel. L'enveloppe de la glande est constituée par une assise de cellules très aplaties; on y rencontre quelques gonocytes isolés. Les cor-

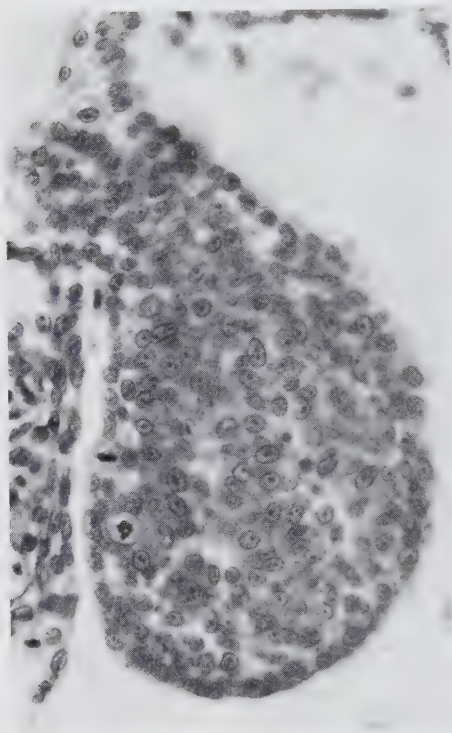


FIG. 7. — Coupe transversale dans un testicule au stade 33 ($\times 370$).

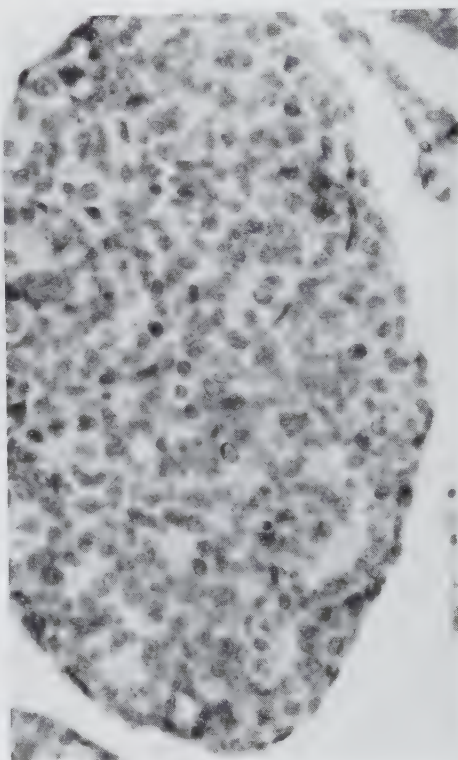


FIG. 8. — Coupe transversale dans un testicule au stade 39 ($\times 370$).

dons du *rete*, formés par un empilement de cellules aplaties à contenu optiquement vide, exception faite d'un petit noyau très chromophile —, occupent le *mésorchium*.

La structure de la gonade est constante chez tous les individus étudiés et les caractères mâles acquis très tôt, car à partir du stade 33 on ne peut plus parler de l'existence d'un cortex à la surface du testicule. Seuls quelques gonocytes isolés persistent au niveau de l'enveloppe de la glande et marquent l'emplacement du territoire hétérosexuel. Cependant, les prolongements antérieur et postérieur du testicule restent plus longtemps

indifférenciés : ils sont formés d'un cortex mince, unistratifié, renfermant quelques gonocytes. Ces derniers territoires possèdent un faible potentiel évolutif.

Nous avons observé, chez un jeune embryon mâle au stade 34 (embryon 583-2), la présence d'un testicule typique du côté droit et d'une gonade gauche mal différenciée, à structure mixte. Un cortex unistratifié la recouvre presque complètement. Un tissu mésenchymateux occupe l'intérieur de la gonade aux extrémités antérieure et postérieure, alors qu'il fait place, dans la région moyenne, à quelques cordons testiculaires. Dans une portion postérieure, d'un volume assez important, le cortex est plus épais et confère à cette zone une structure d'ovaire. La gonade se présente donc comme une glande mâle dont les extrémités, antérieure, mais surtout postérieure, ont une structure plutôt femelle.

Les changements intervenant après la naissance dans l'organisation du testicule sont peu importants et concernent seulement le développement et la maturation des éléments déjà mis en place.

D. DISCUSSION

Le stade bipotentiel, avec coexistence d'un cortex et d'une médulla, qui caractérise le développement de la gonade de tous les Vertébrés, semble ici très fugace. L'évolution dans le sens mâle s'effectue rapidement, tandis que l'édification de l'ovaire est plus lente, cette différence chronologique se manifestant dans l'achèvement des structures plutôt que dans l'orientation sexuelle de la glande. Il se pourrait, en outre, que des différences apparaissent très tôt, dès l'édification du matériel médullaire, mais ce point devra être étudié à nouveau, car il s'agit d'un fait inhabituel chez un Vertébré. Enfin, il n'existe pas, dans la gonade elle-même, de territoire hétérosexuel susceptible de présenter des potentialités évolutives. Chez le mâle, le testicule est exempt de tout lambeau cortical. Chez la femelle, la fragmentation en cordons du massif qui occupe le centre de l'ovaire, loin d'être générale, paraît au contraire tout à fait exceptionnelle. Il est peu probable que ce massif ait des potentialités mâles; par assimilation à l'ovaire des Oiseaux (SCHEIB, 1959; NARBAITZ et SABATINI, 1963), nous pensons plutôt qu'il s'agit d'une glande endocrine embryonnaire, mais aucune recherche histochimique n'a été faite pour permettre de l'affirmer. La différenciation du sexe de la gonade est donc nette et rapide. Nous pouvons déjà dire que le Lézard vivipare est une espèce à forte détermination sexuelle.

Ces caractères sont à l'opposé de ceux qu'il est classique d'attribuer aux Reptiles, si l'on en croit, entre autres, FORBES qui écrivait en 1956 : « Rather prolonged embryonic bisexuality appears to be the rule in reptiles » (p. 146).

Il est en effet bien connu que chez les Chéloniens (RISLEY, 1933 *b*; VIVIEN et STEPHAN, 1958; VIVIEN, 1959; STEPHAN, (1963) et les Crocodiliens (FORBES, 1940 *a*) un cortex subsiste à la surface du testicule, longtemps après la naissance. Chez les différents Lacertiliens étudiés, les faits varient suivant les espèces, mais les persistances hétérosexuelles se limitent en général à la période embryonnaire. La présence d'un cortex testiculaire a été notée par SIMKINS et ASANA (1931) chez *Calotes*, FORBES (1956) chez *Anolis*, MARIN et SABBADIN (1958) chez *Lacerta sicula campestris*, RAYNAUD (1959 *c* et 1960 *a*) chez *Anguis fragilis*, tandis que BRAUN (1877) et HOFFMANN (1889) ne paraissent pas l'avoir observée chez *Lacerta agilis*, non plus que MENDIETTA (1963) chez *Gongylus ocellatus*. Ces références concernent la persistance d'un territoire à potentialités femelles dans une glande appartenant à un mâle génétique. L'observation inverse est plus rare : BRAUN (1877), HOFFMANN (1889), RAYNAUD (1960 *a*), FORBES (1940 *b*) et GODET (1961), ces deux derniers chez des Crocodiliens, reconnaissent dans l'ovaire un massif médullaire. Mais s'agit-il dans tous les cas d'un territoire hétérosexuel ?

II. — DÉVELOPPEMENT DES VOIES GÉNITALES

A. LE CANAL DE MÜLLER

1. HISTORIQUE

L'origine et la destinée des canaux de Müller ont été étudiées chez les Reptiles par différents auteurs. Aux recherches déjà anciennes de BRAUN (1877), MIHALKOWICS (1885), HOFFMANN (1889), WIEDERSHEIM (1890, 1891), WILSON (1896, 1900), se sont ajoutées plus récemment celles de RISLEY (1933 *b*), FORBES (1940 *a*, 1956), LEROY (1956), RAYNAUD et coll. (RAYNAUD, 1961; RAYNAUD, 1962 *a*; RAYNAUD et RAYNAUD, 1964; RAYNAUD et PIEAU, 1965; RAYNAUD, 1965 *b* et *c*). Nous avons déjà donné quelques éléments concernant le Léopard vivipare (DUFAURE, 1961 *a*, 1964 *d*, 1965 *b*).

2. CHRONOLOGIE DE L'ÉVOLUTION DU CANAL DE MÜLLER

La toute première ébauche du canal de MÜLLER (plaque müllérienne puis invagination ostiale) se repère sur des sections histologiques vers les stades 31 à 32, alors qu'au stade 32 cette formation n'est pas encore visible à la dissection.

Les canaux de Müller peuvent être distingués macroscopiquement à partir du stade 33. A ce moment-là, ils sont développés jusqu'à un niveau correspondant à peu près à l'extrémité céphalique des gonades. Un mince filet (soulèvement de l'épithélium péritonéal ou ébauche de la *plica tubæ*), plus ou moins visible suivant les individus, fait suite à cette formation. L'ébauche suit un trajet typique, celui du canal de Wolff : apparaissant à la face ventrale ou ventro-latérale du mésonéphros, elle passe en position dorso-latérale sur le bord externe du rein embryonnaire, puis, dans la région du tiers postérieur du mésonéphros, revient ventralement.

Les canaux de Müller ne se forment pas complètement chez les embryons mâles, aussi ne peut-on dire que l'embryon passe par un stade bipotentiel. Dès le stade 34, l'évolution des voies müllériennes est différente suivant les sexes : la croissance en direction postérieure s'interrompt chez le mâle, pour ne se poursuivre que chez la femelle ; les canaux atteignent chez cette dernière le cloaque vers le stade 36.

Les stades 36 et 37 marquent le début de la régression des formations müllériennes antérieures chez le mâle. Il n'est pas rare d'observer que les canaux s'amincissent en différents points, de telle sorte que subsistent une ou deux portions non régressées, parfois légèrement dilatées, qui paraissent alors former des ampoules.

Avant la naissance, les canaux de Müller s'aplatissent chez la femelle et prennent ainsi la configuration rubanée qu'ils ont chez l'adulte. Ils ont complètement disparu chez les mâles, sauf pour quelques individus chez lesquels persiste un très court filet tout à fait cranial.

3. CROISSANCE, DIFFÉRENCIATION SEXUELLE ET RÉGRESSION DU CANAL DE MÜLLER

Une simple autopsie des embryons montre que les canaux de Müller, encore incomplètement développés, sont rapidement plus longs chez les femelles que chez les mâles (fig. 9). Pour mettre plus nettement en évidence ce phénomène, nous avons soigneusement débité en coupes sériées quelques lots d'embryons, et mesuré la longueur exacte de la formation müllérienne, depuis le bord postérieur de l'*ostium* jusqu'à l'extrémité du cordon épithélial, par comptage des coupes. Ce point, ayant fait l'objet d'une étude préliminaire (DUFAYRE, 1964 *d*), peut être brièvement traité. Des différences de longueur apparaissent au stade 34 et s'accroissent au stade 35, mais, compte tenu des variations observées suivant les cas, on ne peut faire que des suppositions sur l'origine du phénomène : vitesse de croissance différente entre les deux sexes ou arrêt brusque de l'organo-

genèse chez le mâle. Nous avons alors cherché à savoir si des différences n'apparaissent pas également dans le diamètre du tube, aux stades avoisinant l'époque de la différenciation sexuelle. Une section transversale de chaque canal est dessinée pour différents individus des stades 33, 34 et 35, à un niveau équivalent (quelques coupes en arrière de l'*ostium*), et la surface de chaque formation, mesurée à l'aide d'un planimètre. Du fait de l'irrégularité des contours du canal de Müller, la mesure de la surface est plus précise que celle du diamètre. Les chiffres obtenus sont

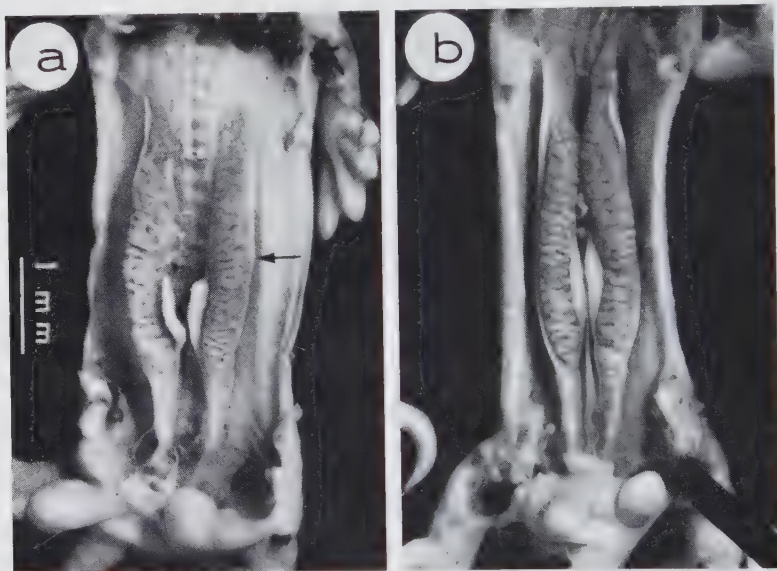


FIG. 9. — Embryon mâle (a) et embryon femelle (b) disséqués au stade 35. La flèche indique le niveau de l'extrémité des canaux de Müller chez le mâle.

rapportés dans le tableau I. Une grande variabilité peut être constatée, tant dans les valeurs correspondant à un même embryon, qu'entre deux embryons de sexe identique appartenant à un même groupe ou à des groupes différents. On remarque néanmoins que, pour un même groupe d'embryons, le canal de Müller est toujours plus large chez la femelle que chez les différents mâles étudiés, et cela dès le stade 33. Il est donc peu probable qu'il y ait un arrêt brusque de la croissance chez le mâle; l'édification müllérienne doit différer très précocement suivant le sexe de l'individu. Cependant, au stade 33, les valeurs obtenues, peu nombreuses, ne sont pas statistiquement significatives.

Signalons tout de suite que la comparaison de la taille du canal de Müller (longueur et diamètre) et de la structure de la gonade permet

TABLEAU 1
MESURES DES SURFACES DE SECTIONS TRANSVERSALES
DES CANAUX DE MÜLLER
AU MOMENT DE LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE

Stade	Surface des canaux de Müller	
	Embryons femelles	Embryons mâles
33.	126,5-139	$\left. \begin{array}{l} 62 - 82,5 \\ 101 - 120 \\ 132 - 76 \end{array} \right\} M = 94 \pm 27$
34.	222 - 198	$\left. \begin{array}{l} 78 - 64 \\ 74 - 117 \\ 68 - 105 \\ 80 - 93 \\ 84,5-100 \\ 114 - 118 \\ 145 - 120 \end{array} \right\} M = 95 \pm 24$
35.	85 - 118	$\left. \begin{array}{l} 68 - 68 \\ 78 - 78 \\ 79 - 84 \end{array} \right\} M = 76 \pm 19$

Les chiffres rapportés dans les différentes colonnes représentent les mesures des surfaces des 2 canaux de Müller effectuées sur une même section transversale à des niveaux correspondants pour les différents embryons étudiés (quelques coupes en arrière de l'ostium). Les mesures sont effectuées d'après des dessins à la chambre claire à l'aide d'un planimètre compensateur Morin (système Coradi); les chiffres représentent des unités planimétriques arbitraires. A chaque stade correspond un lot d'embryons provenant d'une même portée.

d'établir l'existence d'une relation étroite entre l'état de différenciation de la glande génitale et celui de l'ébauche müllérienne. Non seulement les canaux de Müller sont plus développés chez les femelles que chez les mâles, mais chez ces derniers, où les variations individuelles sont importantes, l'ébauche est d'autant plus développée que le testicule paraît plus jeune.

Comment se déroule la régression des canaux de Müller chez le mâle ? Dès le stade 35 apparaissent des signes de dégénérescence, mais ceux-ci sont encore peu nombreux : noyaux en pycnose, caryolyse, apparition de gros granules éosinophiles dans le cytoplasme, ces derniers éléments étant vraisemblablement analogues aux granules de dégénérescence longuement décrits par FORSBERG (1963). Ces destructions ne sont pas très importantes au début, mais s'intensifient progressivement alors que le diamètre de la formation müllérienne décroît. Ce dernier phénomène est particulièrement net au niveau de l'ostium qui garde sa forme et sa structure, mais dont la taille diminue, comme s'il se ratatinait. Ensuite

seulement, apparaît une destruction de l'épithélium, généralisée à toutes les cellules; elle débute de façon concomitante au niveau de l'ostium et de l'extrémité postérieure du canal de Müller, puis s'étend à partir de ces deux points à l'ensemble de la formation. *En conclusion*, la différenciation sexuelle du canal de Müller, chez l'embryon mâle, est un

phénomène progressif qui comporte plusieurs phases : ralentissement (relatif par rapport au cas de la femelle), puis arrêt de croissance, réduction de taille et destruction généralisée de l'épithélium müllérien.

Aux mêmes stades, les canaux de Müller des femelles présentent également des signes de dégénérescence (avec les mêmes images cytologiques que celles qui sont observées chez le mâle), non seulement au niveau de l'extrémité postérieure des canaux où ils sont très nombreux (1), mais aussi tout le long de la formation. Cette dégénérescence localisée ne conduit pas, néanmoins, à une destruction de l'épithélium müllérien. Chez la femelle, à la naissance, les canaux de Müller sont complètement développés depuis l'ostium jusqu'au cloaque, au niveau duquel ils présentent une extrémité dilatée mais aveugle, car ils ne s'ouvrent pas encore dans l'urodém.

Le conduit a une structure d'épithélium cylindrique simple (fig. 10); il est entouré par un tissu mésenchymateux assez dense dans lequel on ne peut encore reconnaître aucune différenciation musculaire. Les glandes utérines ne sont pas édifiées.



FIG. 10. — Canal de Müller d'une femelle au stade 40. Coupe transversale dans la région des gonades ($\times 250$).

(1) Des images de pycnose dans l'extrémité postérieure des canaux de Müller ont été décrites et interprétées par RAYNAUD et RAYNAUD (1964), puis par RAYNAUD (1965 b).

4. DISCUSSION

La croissance du canal de Müller constitue donc un caractère de différenciation sexuelle précoce qui se trouve, probablement, sous le contrôle des glandes génitales. Non seulement le canal de Müller est arrêté, chez le mâle, dans sa progression antéro-postérieure, mais le segment qui s'édifie est, lui-même, plus étroit qu'un segment correspondant dans l'autre sexe. On ne peut donc parler de stade bipotentiel de l'ébauche müllérienne, tel qu'il a été défini, par exemple, chez les Oiseaux (WOLFF, 1949 b; LUTZ-OSTERTAG, 1954).

L'agénésie plus ou moins étendue des canaux de Müller est un fait assez remarquable, puisqu'elle n'a été signalée que chez les Sélaciens (voir THIÉBOLD, 1964) et chez quelques espèces de Reptiles Lacertiliens, dont le Caméléon (LEROY, 1956), le Lézard vivipare (DUFAYRE, 1961 a, 1964 d) et l'Orvet (RAYNAUD et RAYNAUD, 1964), chez lequel elle n'affecte cependant que 50 % des embryons mâles. Si l'intervention des glandes génitales dans ce phénomène paraît hautement probable, on ne peut faire que des suppositions sur leur rôle exact : action inhibitrice du testicule, ou action stimulante de l'ovaire, ou bien encore action simultanée, mais en sens opposé, des gonades dans chaque sexe. Ces différentes hypothèses ont été formulées par LEROY (1956), RAYNAUD et RAYNAUD (1964) et DUFAYRE (1964 d) qui n'ont pu apporter d'arguments en faveur de l'une ou de l'autre d'entre elles. On peut cependant supposer que, comme la régression, l'agénésie des canaux est due à une influence testiculaire. THIÉBOLD (1962) a fourni un indice intéressant en faveur de cette hypothèse : il provoque, en effet, une agénésie partielle des canaux de Müller de l'embryon de Poulet, en greffant pendant la phase d'organogenèse un fragment de testicule embryonnaire.

Chez le Lézard vivipare, l'agénésie müllérienne du mâle n'est pas due à une destruction plus ou moins brutale des canaux pendant leur édification, mais en premier lieu à un ralentissement de leur croissance par rapport à celle de l'ébauche femelle. A des stades précoces (33 à 34) où les ébauches sont déjà différentes, les images de nécrose sont rares ou absentes, et lorsqu'elles apparaissent (stade 35), elles ne sont pas plus abondantes chez le mâle que chez la femelle (au début tout au moins). Il nous paraît même être un fait général, indépendant du sexe des individus, que l'épithélium müllérien manifeste une certaine tendance à dégénérer.

B. LE CANAL DE WOLFF ET LE MÉSONÉPHROS

1. HISTORIQUE

Il est bien connu que le mésonéphros et le canal de Wolff se transforment chez le mâle des Amniotes en épидидyme et en canal déférent, tandis que ces structures régressent chez la femelle. Les Reptiles n'échappent pas à cette règle tout à fait générale. Après les études déjà anciennes de LEYDIG (1872) et de BRAUN (1877), RAYNAUD et PIEAU (1964) ont décrit les modalités de la différenciation sexuelle des canaux de Wolff de l'embryon d'Orvet.

2. OBSERVATIONS PERSONNELLES

Le mésonéphros et le canal de Wolff ne présentent pas de dimorphisme sexuel chez l'embryon.

Jusqu'à la naissance, l'aspect des canaux de Wolff est identique dans les deux sexes. Au stade 40, par exemple, le canal est de forme sub-cylindrique (diamètre d'environ $45\ \mu$ au niveau des gonades), sauf dans la région postérieure au voisinage du métanéphros où il est beaucoup plus développé et aplati (dimensions d'environ $80 \times 25\ \mu$). Il est constitué par un épithélium prismatique unistratifié, d'une épaisseur de 10 à 15 μ , dont les noyaux sont répartis à différents niveaux de la cellule. Des mesures, effectuées d'après des dessins à la chambre claire de sections transversales pratiquées à différents niveaux, ne révèlent pas de différences significatives suivant le sexe de l'individu. Ces observations correspondent à celles de RAYNAUD et PIEAU (1964) chez l'Orvet.

L'évolution de ces organes, après la naissance, n'a pas fait l'objet d'une étude approfondie sur des préparations histologiques, mais des individus ont été régulièrement disséqués et fixés. La différenciation des voies évacuatrices des produits génitaux chez le mâle, et la régression des structures homologues chez la femelle, sont tardives. Au printemps de l'année suivant la naissance, les mésonéphros sont encore semblables, tout au moins à la dissection, chez les femelles et les mâles, alors que les canaux de Wolff paraissent déjà beaucoup plus développés chez ces derniers. Au cours de l'été, l'évolution est rapide, et chez les femelles âgées d'un an, dont la longueur, museau-cloaque, est d'environ 40 mm, les mésonéphros régressent.

En conclusion, la différenciation sexuelle des voies déférentes du mâle est donc tardive et toujours post-natale. Le cas du Lézard vivipare, comme des autres Lacertiliens probablement, se rapproche de celui du Poulet étudié récemment par MARAUD (1963).

III. — DÉVELOPPEMENT DES ORGANES COPULATEURS

1. HISTORIQUE

L'organogenèse du cloaque et de ses formations annexes a surtout été étudiée, chez les Squamates, au début du siècle. Il convient de citer, en particulier, les recherches de UNTERHÖSSEL (1902) et de FLECK (1910). Nous avons décrit chez le Lézard vivipare (DUFAYRE, 1961 *a*) l'apparition de l'ébauche des pénis à un stade précoce, et leur évolution jusqu'à la naissance dans les deux sexes. Ce travail a été complété par la suite (DUFAYRE, 1963). RAYNAUD a étudié ces différents processus chez l'embryon d'Orvet (1963 *a* et *c*).

2. ÉVOLUTION ET DIFFÉRENCIATION SEXUELLE DES TUBERCULES GÉNITAUX

A partir du stade 31, des tubercules génitaux s'édifient de façon identique chez tous les individus. Ces processus ont été décrits ailleurs (DUFAYRE, 1961 *a*, 1963). Puis, après le stade 33, apparaît un dimorphisme sexuel. Comme ce dimorphisme intéresse non seulement la forme de l'organe, mais aussi sa taille, des mesures ont été effectuées aux différents stades de l'embryogenèse. Ne pouvant mesurer avec suffisamment de précision la longueur de l'organe, et compte tenu du fait que la longueur du tubercule et la largeur de son extrémité apicale, ou gland, varient dans le même sens, nous avons choisi cette dernière mensuration. Les valeurs obtenues sont rassemblées sous forme de graphique dans la figure 11.

Au stade 33, l'extrémité des tubercules s'élargit chez tous les individus, conférant à l'ébauche une forme de massue, et par analogie avec les Mammifères, nous appelons « gland » cette différenciation apicale. Dès le stade 34 qui marque la fin du stade indifférencié, le gland peut être plus large chez les mâles que chez les femelles, les tailles extrêmes étant de 0,56 mm pour les premiers, 0,35 mm pour les seconds, mais ces différences ne sont pas statistiquement significatives (fig. 11). Au stade 35,

le gland du mâle, qui a continué à croître, prend une forme bilobée. Ce faisant, un sillon se dessine sur la face postérieure du tubercule. Il prend naissance entre les deux lobes du gland et se prolonge sur la tige jusqu'à la base de l'organe. Ainsi apparaît l'ébauche de la gouttière spermatique. Chez la femelle, au contraire, les deux lobes ne se dessinent généralement pas, l'extrémité des tubercules prenant une forme plutôt lancéolée (voir fig. 9).

Jusqu'à la naissance, ces organes poursuivent leur croissance chez le

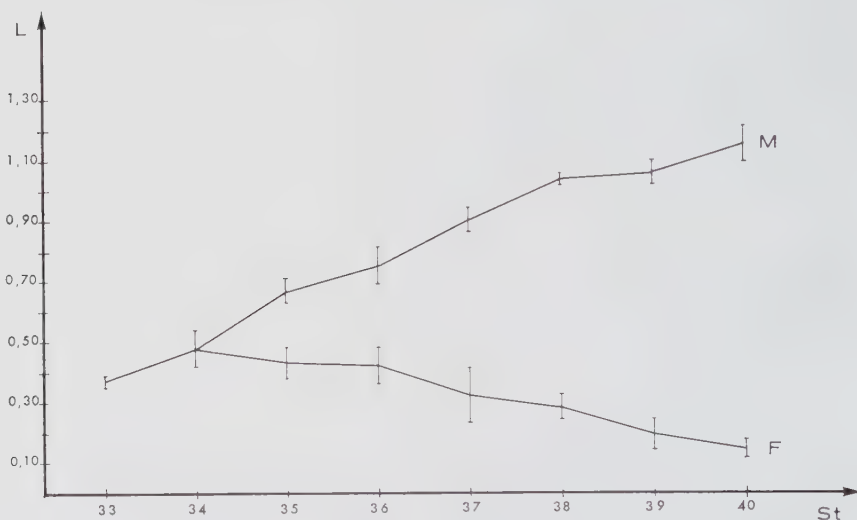


FIG. 11. — Représentation graphique de la taille des tubercules génitaux aux différents stades de l'embryogenèse.

Les stades (St) sont portés en abscisses, la largeur (L) de l'extrémité apicale du tubercule en ordonnées. La moyenne des tailles et l'écart-type sont calculés pour chaque stade et représentés sur la figure. Les chiffres sont exprimés en millimètres. L'ensemble des valeurs obtenues expriment les résultats de 149 mesures. A partir du stade 34, l'évolution est différente chez les mâles (M) et les femelles (F).

mâle, tandis qu'ils régressent progressivement dans l'autre sexe (fig. 11). Le dimorphisme sexuel devient très marqué (fig. 12). L'édification des pénis est complexe. A partir du stade 38, plusieurs différenciations apparaissent. La gouttière spermatique s'approfondit, et le gland se termine, à son extrémité libre, par deux lobes arrondis, maintenant bien séparés par une échancrure apicale. Au stade 40, les organes copulateurs font encore saillie hors du cloaque; ils sont invaginés à la naissance. Chez la femelle, au stade 40, il faut soulever les lèvres du cloaque pour trouver deux petits rudiments de tubercules génitaux dont la taille va de 0,08 mm à 0,18 mm suivant les individus (la largeur du gland chez le

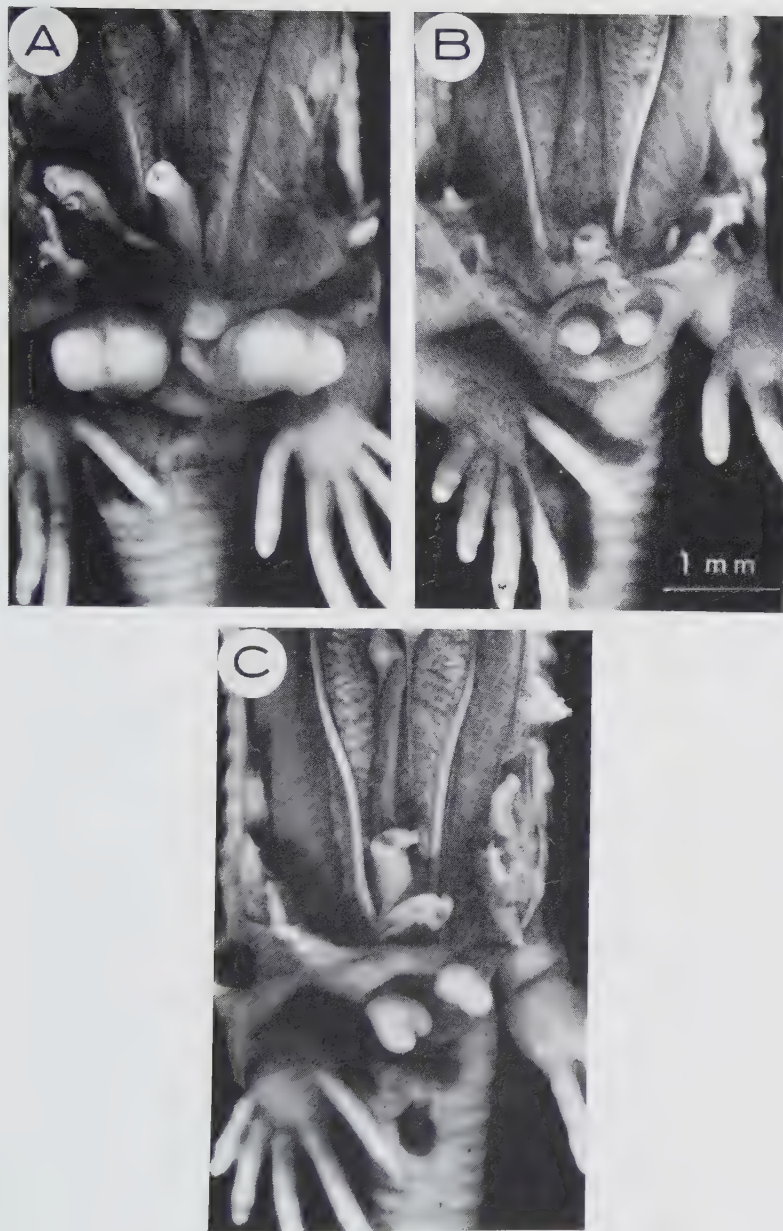


FIG. 12. — Tubercules génitaux de 3 embryons au stade 37 provenant de la même portée.

A. Mâle.

B. Femelle normale à tubercules unilobés.

C. Femelle à tubercules bilobés.

Les embryons sont à la même échelle (voir fig. B).

mâle est alors supérieure à 1 mm). Ces formations disparaissent complètement et l'on ne peut trouver chez la femelle adulte un organe homologue au clitoris des Mammifères.

Si, d'une manière habituelle, l'évolution des tubercules génitaux, chez la femelle, se traduit par la régression régulière d'un organe encore très indifférencié, il n'en est pas toujours ainsi et une évolution vers le type mâle peut s'ébaucher. Nous avons déjà étudié ce phénomène (DUFAURE, 1963). Des lobes peuvent ainsi se dessiner à l'extrémité apicale du tubercule, comme chez le mâle (fig. 12). Ce sont, dans la plupart des cas, les seules différenciations. Dans tous les cas, la taille de l'organe est inférieure à celle d'un pénis à un stade correspondant. Ce phénomène, de fréquence très variable, a été étudié de façon statistique en 1963, année où il paraissait particulièrement marqué. Pour 70 femelles appartenant à 19 portées différentes, fixées entre le stade 35 et le stade 40, nous avons trouvé 12 individus à tubercules bilobés, soit environ 1/7, les autres individus évoluant suivant le type général décrit plus haut.

3. DISCUSSION

Comme le canal de Müller, l'ébauche des organes copulateurs constitue, chez le Lézard vivipare, un réacteur somatique sur lequel la différenciation sexuelle se manifeste précocement et de façon nette. Cependant, contrairement à ce premier effecteur, les tubercules génitaux passent par une phase d'indifférence sexuelle mieux marquée. Leur évolution est semblable chez tous les individus jusqu'au stade 34; puis elle diffère suivant les sexes, d'abord par la taille, ensuite par la morphologie et la structure des organes.

L'évolution parfois hésitante des tubercules chez la femelle (édification d'un tubercule bilobé) ne doit pas nous abuser. Il suffit, pour s'en convaincre, d'examiner la figure 11 : malgré d'importantes variations individuelles, la taille de l'organe diminue de manière continue depuis le stade 34 jusqu'à la naissance, tandis qu'elle augmente, de façon considérable, chez le mâle. A cet égard, le Lézard vivipare est différent de l'Orvet étudié par RAYNAUD (1963 c), chez lequel les ébauches phalliques sont encore assez semblables dans les deux sexes à la fin du développement embryonnaire. Insistons sur le fait qu'il s'agit bien chez la femelle d'une régression et non d'un simple arrêt de croissance. L'évolution est donc semblable à celle du tubercule génital de l'embryon de Canard étudié par EM. WOLFF (1950). Ainsi pouvons-nous supposer que, comme chez les Oiseaux, une hormone femelle en est responsable. Cette hypothèse doit être soumise à l'épreuve de l'expérience.

TABLEAU II

CHRONOLOGIE DES PRINCIPALES ÉTAPES DE L'ÉDIFICATION
DE L'APPAREIL GÉNITAL

	Stade	Gonades	Dérivés müllériens (voies génitales femelles)	Dérivés mésonephrétiques (voies génitales mâles)	Organes copulateurs
Période embryonnaire.	27.	Colonisation par les gonocytes primordiaux.		Édification antéropost. des mésonephros et des canaux de Wolff.	
	28.				
	29.				
	30.	Édification des crêtes génitales.	Canaux de Wolff atteignent le cloaque.	Apparition de l'ébauche des tubercules génitaux.	
	31.	Stade indifférencié.	Formation de la plaque müllérienne. Apparition de différences dans le diamètre.		Stade indifférencié.
	32.	Différenciation sexuelle (apparition de différences structurales).			
	33.				
	34.	Apparition de différences morphologiques.	Apparition de différences de longueur.	Mésonephros constitués dans les deux sexes.	Apparition de différences dans la taille.
	35.				Apparition de différences dans la forme.
	36.				Début des prophases méiotiques dans l'ovaire.
	37.				
	38.				
	39.				
	Période juvénile.	40.		Canaux complètement régressés chez le mâle.	Mésonephros et canaux de Wolff semblables dans les deux sexes.
20 mm (naissance).		Formation des follicules ovariens chez la femelle et formation des tubes séminifères à partir des cordons testiculaires chez le mâle.	Différenciation progressive des oviductes chez la femelle.	Apparition de dimorphisme au niveau des canaux de Wolff.	Régression des mésonephros et des canaux de Wolff chez la femelle.
40 mm (1 an.)					
Reproduction possible à partir de 2 ans (21 mois), plus généralement 3 ans chez les femelles.					

CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE

Les principales phases de l'organogenèse de l'appareil génital du Lézard vivipare sont résumées dans le tableau II. L'examen de ce document nous conduit à deux conclusions qui intéressent la suite de notre exposé.

1° La différenciation des gonades, des canaux de Müller et des tubercules génitaux s'effectue pendant la période embryonnaire. Seules, la régression des mésonéphros et des canaux de Wolff chez la femelle, la différenciation des voies déférentes chez le mâle, sont tardives puisqu'elles ne surviennent que longtemps après la naissance. C'est donc chez l'embryon que devra s'effectuer l'analyse des mécanismes fondamentaux de la différenciation du sexe. Aussi nos recherches expérimentales ont-elles porté sur ce matériel et n'avons-nous pas, de ce fait, envisagé les causes de l'évolution des dérivés mésonéphrétiques.

2° Il existe une correspondance étroite entre le stade de différenciation des glandes génitales et celui des principaux effecteurs. La détermination des canaux de Müller, puis celle des tubercules génitaux, qui est un peu plus tardive, suivent de près la différenciation des gonades. L'existence de cette relation chronologique suggère fortement que les glandes génitales dirigent l'évolution des autres territoires sexuels. Ce fait, bien mis en évidence chez certains Vertébrés (Batraciens, Oiseaux et Mammifères), reste à démontrer expérimentalement chez les Reptiles.

Quelques caractères de la différenciation du sexe chez cette espèce se dégagent de l'étude de l'organogenèse normale :

— les gonades évoluent rapidement; les structures hétérosexuelles sont absentes ou fugaces et, de toute façon, très inconstantes;

— les canaux de Müller ne passent pas par un état indifférencié, analogue à celui qui est connu chez la plupart des autres Vertébrés; un dimorphisme apparaît dès les premières phases de l'organogenèse;

— la différenciation des tubercules génitaux est plus lente que celle des canaux de Müller; elle est précédée d'une phase indifférenciée plus facile à mettre en évidence que pour les autres territoires;

— l'évolution de l'appareil génital paraît s'effectuer plus vite chez l'embryon mâle que chez la femelle.

D'une manière générale, la brièveté de la période d'indifférenciation, l'absence apparente de stade bipotentiel, ou sa fugacité, caractérisent le Lézard vivipare. Ce Lacertilien s'oppose aux Chéloniens et aux Crocodiliens, souvent pris comme type chez les Reptiles. Nous pouvons le considérer comme une espèce à forte détermination sexuelle. De ce fait,

il est compréhensible que nous n'ayons pas trouvé de cas d'intersexualité spontanée chez l'adulte (voir *Matériel*), ni qu'aucune anomalie de ce type ne soit rapportée dans la littérature, excepté l'observation très particulière de FRANKENBERGER (1923) (voir *Introduction*, p. 442).

L'existence d'une forte détermination sexuelle pose des problèmes intéressants qui doivent maintenant être envisagés sur un plan expérimental.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES PENDANT LA VIE EMBRYONNAIRE

I. — RECHERCHES SUR LE RÔLE DES GONADES EMBRYONNAIRES DANS LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE

A. EXPÉRIENCES DE GREFFES

1. HISTORIQUE

Depuis l'interprétation des free-martins des Bovidés par LILLIE (1916) et par KELLER et TANDLER (1916) qui introduisait la notion d'hormones embryonnaires pour expliquer les phénomènes de la différenciation du sexe, on a tenté, par de nombreuses expériences de parabioses et de greffes, de reproduire ce phénomène naturel. JOST (1947 *a*) en a donné une revue bibliographique très complète. Depuis cette mise au point, outre les travaux effectués chez les Oiseaux qui sont cités plus loin, ont paru les résultats de recherches entreprises chez les Mammifères (MACINTYRE, 1956; HOLYOKE, 1956, 1957; MACINTYRE et coll., 1959, 1960; TURNER et ASAKAWA, 1964) et chez les Sélaciens (THIÉBOLD, 1964).

Chez les Reptiles, un seul auteur, RISLEY (1938), a tenté de greffer des gonades d'embryons de Tortue chez de jeunes individus de la même espèce. Ses résultats, succinctement énoncés, ne paraissent guère utilisables.

Chez les Oiseaux, qui se rapprochent le plus du matériel reptilien, GREENWOOD (1925), WILLIER (1925), CORINALDESI (1927) et DENNIS (1936) n'ont pas observé de modifications significatives des territoires sexuels

après des greffes chorio-allantoïdiennes de gonades embryonnaires. A la suite de BRADLEY (1941), ET. WOLFF (1947) a obtenu des résultats décisifs par la méthode des greffes coelomiques, en montrant qu'un greffon ovarien provoque la formation d'un ovotestis sur un hôte mâle et qu'un transplant testiculaire, s'il ne modifie pas les glandes génitales, inhibe le développement et induit la régression des canaux de Müller d'un hôte femelle. Pourtant, la méthode des greffes sur l'allantoïde devait apporter des résultats probants. HUIJBERS (1951), LUTZ-OSTERTAG et NÈGRE (1960), GROENENDIJK-HUIJBERS (1960), LUTZ-OSTERTAG et DIDIER (1961), EM. WOLFF et LUTZ-OSTERTAG (1961) parvenaient à reproduire, en greffant des gonades embryonnaires, les phénomènes d'intersexualité faible découverts par LUTZ et LUTZ-OSTERTAG (1959) chez les embryons jumeaux d'Oiseaux, issus d'œufs à double jaune (free-martins). Il était ainsi prouvé que les hormones sexuelles embryonnaires pouvaient non seulement diffuser dans les tissus de proche en proche, ainsi que l'avaient montré les greffes coelomiques, mais aussi se propager par voie sanguine.

2. GREFFES DE RÉGIONS CLOACALES

Nous avons entrepris, par cette expérimentation, l'analyse de l'évolution des tubercules génitaux. Il ne nous a pas paru souhaitable, aux jeunes stades, de prélever cette seule ébauche, aussi toute la région cloacale a-t-elle été explantée. De ce fait, le greffon renferme aussi deux territoires dont le comportement doit être considéré. Ce sont : 1° les extrémités des crêtes génitales, difficiles à éliminer dans les prélèvements effectués avant le stade 33, et pour lesquelles il faut tenir compte de certaines capacités régulatrices; 2° la partie terminale des formations müllériennes (ou tout au moins leur enveloppe ou *plica tubæ*).

1° Protocole expérimental et résultats généraux.

Ces points qui ont fait l'objet d'une communication préliminaire (DUFAURE, 1964 g) sont ici envisagés succinctement. La technique est exposée dans le chapitre *Matériel et méthodes*. Dix séries expérimentales ont été réalisées comprenant des associations entre greffons et hôtes de même âge (1^{er} groupe d'expériences : tableau III) ou d'âges différents (2^e groupe d'expériences : tableau IV). Les pièces sont fixées lorsque le transplant atteint les stades 36 ou 37 pour que le sexe des tubercules génitaux puisse être reconnu. Après examen morphologique, tous les greffons sont systématiquement étudiés en coupes sérieées, de même que les porte-greffes de sexe « douteux ».

2° Morphogenèse des tubercules génitaux.

Les tubercules génitaux s'édifient chez tous les greffons et 41 d'entre eux, parvenus à un stade suffisamment avancé, sont examinés ici du point de vue de l'orientation sexuelle de ces organes. On reconnaît, en général, les types, mâle et femelle, tels qu'ils sont décrits dans la première partie. Dans certains cas, les tubercules présentent un aspect mâle

TABLEAU III

GREFFES DE RÉGIONS CLOACALES. PREMIER GROUPE D'EXPÉRIENCES

Lot	Stade du donneur	Stade de l'hôte	Sexe de l'hôte	Type sexuel des tubercules du greffon	Présence de gonade dans le greffon
E 79.	30	30	Mâle. » Femelle.	Mâle. » Femelle.	0 0 Ovaire.
E 80.	30	30	Mâle. » » Femelle. »	Mâle. » » Femelle. »	0 0 0 0 Testicule.
E 81.	31-32	31-32	Mâle. Femelle. »	Mâle. Femelle. »	0 0 0
E 87.	31	29-30	Mâle. » » » Femelle. » » » »	Mâle. » » » Femelle. » » » »	0 0 0 0 0 0 0 0 Ovaire.
E 103.	32-33	32-33	Mâle. » Femelle. » Mâle.	Mâle. » Femelle. Intermédiaire. Femelle.	0 0 0 0 0

Dans la 2° et la 3° colonne en partant de la gauche figurent les stades respectifs du donneur et de l'hôte au moment de l'opération. Le sexe de l'hôte et le type sexuel des tubercules génitaux du greffon à la fin de l'expérience sont donnés dans la 4° et 5° colonne. La 6° colonne rend compte de la présence éventuelle de gonade dans le greffon. Les renseignements concernant une même association greffon-hôte sont portés sur une même ligne horizontale.

incontestable, mais leur taille est inférieure à celle des organes normaux : ils sont alors rangés dans un type dit « intermédiaire », dont nous suggérons plus loin la signification. Pour chaque association, le type sexuel des tubercules transplantés est comparé au sexe du porte-greffe, et les différentes observations groupées en fonction de l'âge respectif du greffon et de l'hôte dans les tableaux III et IV. La présence éventuelle de gonade dans le greffon est signalée; exceptionnelle, elle ne paraît pas entacher l'apport de ces expériences.

a) Premier groupe d'expériences. Greffons et hôtes de même âge (tableau III).

Dans les greffons prélevés avant la différenciation sexuelle des gonades (lots E 79, E 80, E 81, E 87), les tubercules s'orientent toujours suivant le sexe du porte-greffe (20 cas comprenant 10 mâles et 10 femelles). Dans un cas litigieux, le greffon renferme de petits testicules, mais ses tubercules se sont différenciés suivant le type femelle, en accord avec le sexe du porte-greffe. La présence d'une petite gonade dans le greffon a dont été sans influence, et nous avons, de plus, la preuve que des associations entre individus de sexes génétiques différents ont été réalisées. Ces résultats paraissent significatifs. L'ébauche des tubercules génitaux est indéterminée lors de son prélèvement, et son orientation sexuelle est dirigée par le porte-greffe.

Au contraire, dans la dernière série (E 108), pour des associations effectuées plus tardivement (stade 32-33), on voit apparaître des tubercules de type femelle chez un greffon associé à un hôte mâle et des tubercules de type « intermédiaire » avec un porte-greffe femelle. A partir du stade 32-33, l'orientation des greffons semble donc partiellement fixée, au moins pour certains d'entre eux. Le deuxième groupe d'expériences confirme cette hypothèse.

b) Deuxième groupe d'expériences. Greffons et hôtes d'âges différents (tableau IV).

Les greffons sont prélevés depuis le stade 32-33 jusqu'au stade 34 (après la différenciation sexuelle des gonades du donneur) et associés à des hôtes plus jeunes dont les glandes génitales commencent seulement à s'édifier. A la fin de l'expérience, les hôtes sont encore indifférenciés, ou viennent juste de s'orienter suivant leur sexe génétique. Dans 7 cas, les tubercules du greffon ont évolué suivant le type mâle ou femelle, alors que les gonades de l'hôte sont encore indifférenciées. Dans deux autres cas, au moins, des tubercules de type mâle se sont édifiés sur un hôte

TABLEAU IV

GREFFES DE RÉGIONS CLOACALES. DEUXIÈME GROUPE D'EXPÉRIENCES

Lot	Stade du donneur	Stade de l'hôte	Sexe de l'hôte	Type sexuel des tubercules du greffon	Présence de gonade dans le greffon
E 85.	32-33	28-29	Femelle.	Mâle.	0
			Mâle.	»	0
			Femelle.	»	0
			?	»	0
			Femelle.	Femelle.	Ovaire.
			»	Intermédiaire.	0
E 110.	33	28	»	»	0
			»	»	0
			»	»	0
			»	Femelle.	0
			»	»	0
			»	»	0
E 128.	34	29-30	Indif.	Mâle.	0
			»	Intermédiaire.	0
			Femelle.	»	0
			Mâle.	»	0
			»	»	0
			»	»	0

Mêmes explications que tableau III. Une pièce a été perdue et dans ce cas le sexe de l'hôte n'a pu être précisé (?).
Indif. = gonade indifférenciée.

s'orientant vers le sexe femelle. Enfin, 5 greffons présentent des tubercules de type « intermédiaire », ce qui rend leur interprétation plus difficile. Cet ensemble expérimental montre que dans 9 cas, au moins, les tubercules du greffon se sont orientés suivant le type mâle ou le type femelle, indépendamment du sexe de l'hôte. A partir du stade 32-33, l'évolution des tubercules génitaux est donc fixée. L'existence de tubercules de type « intermédiaire » (5 cas sur 16) suggère que cette détermination pourrait être imparfaite chez certains sujets. Cette notion, précisée à l'occasion d'autres expériences, est développée plus loin.

En conclusion, les tubercules génitaux évoluent en greffe allantoïdienne, vers le type mâle ou le type femelle, comme dans les conditions naturelles. Cette différenciation ne dépend pas, en partie tout au moins, de la constitution génétique de l'effecteur, mais probablement de substances qui se propagent par la voie sanguine et répondent ainsi à la définition d'une hormone. Mais nous ne pouvons préciser si les hormones impliquées dans ces phénomènes sont de nature gynogène ou androgène. L'expérimentation nous apprend par ailleurs que l'ébauche des organes copulateurs est indéterminée, jusqu'au stade 32-33 au moins.

3° Morphogenèse des ébauches müllériennes.

Lors du prélèvement du greffon, les canaux de Müller n'ont pas encore atteint, dans leur progression cranio-caudale, les territoires postérieurs qui constituent le transplant. Néanmoins, dans de nombreuses pièces, l'étude histologique révèle que l'épithélium péritonéal qui recouvre le canal de Wolff s'est soulevé pour constituer la *plica tubæ*. Bien que dépourvue de canal de Müller, cette ébauche paraît sujette, au moins dans certains cas, à des variations interprétables.

Dans le premier groupe d'expériences, des différences significatives apparaissent suivant le sexe de l'hôte. Sur les porte-greffes femelles, l'ébauche müllérienne du greffon est bien développée. Elle forme, sur une section transversale, un diverticule recouvert par une assise de cellules élevées et rempli d'un tissu plus ou moins dense, mais de structure désordonnée. Avec les hôtes mâles, cette différenciation est absente ou peu marquée. Dans ce dernier cas, elle est de taille réduite, constituée par un épithélium assez aplati, et ne renferme que quelques cellules, ou n'en contient pas.

Au contraire, dans le deuxième groupe d'expériences, les ébauches sont toujours développées suivant un type moyen et les légères différences que l'on observe, suivant les individus, ne paraissent guère significatives.

En l'absence du conduit épithélial, l'enveloppe du canal de Müller se comporte, néanmoins, comme la formation complète : elle évolue différemment suivant le sexe de la gonade à laquelle elle est associée. Ces observations ne peuvent cependant avoir qu'une valeur indicative.

Cas de développements des territoires gonadiques.

Nous ne pouvons envisager ici leur étude, mais un cas nous paraît intéressant à considérer. Le greffon, associé à un hôte femelle, présentait deux petits testicules bien reconnaissables. Les cordons séminifères sont peu nombreux, dispersés au sein d'un mésenchyme abondant. Alors que les tubercules génitaux du greffon se sont développés suivant le type femelle, traduisant ainsi une influence du porte-greffe, aucun territoire cortical ne s'est édifié à la surface du testicule. Les glandes génitales sont, tout au plus, inhibées.

3. GREFFES DE TRONC

Nous avons cherché, par ce moyen, à effectuer des parabioses, pour observer les effets des hormones sexuelles naturelles sur le développement des glandes génitales, dans des conditions se rapprochant du cas des free-martins.

1° *Protocole expérimental et résultats généraux.*

Les associations sont réalisées de la même façon que dans les expériences précédentes. Seule diffère la préparation du greffon, pour laquelle la section la plus craniale est effectuée vers le niveau des ébauches des membres antérieurs (voir *Matériel et méthodes*).

Dans une série, les porte-greffes sont au stade 30, et les greffons au stade 30-31, au moment de l'opération. Dans chacune des trois autres séries, greffons et hôtes proviennent de mêmes portées et sont tous environ au stade 30. Après 10 à 12 jours de culture, les pièces sont fixées, observées, puis greffons et hôtes sont systématiquement débités en coupes sériées.

Pour 19 associations réalisées, 12 ont réussi. D'une manière générale, le greffon prend bien. Il se vascularise à partir du système circulatoire de l'allantoïde de l'hôte. Comme dans le cas de la région cloacale, le transplant se différencie harmonieusement (fig. 13) et l'excédent de matériel que représente une pièce aussi volumineuse ne paraît pas nuire à l'hôte. L'analyse histologique des tissus et organes présents confirme ce point.



FIG. 13. — Greffes de troncs. Aspect du greffon et de l'hôte en fin d'expérience, après fixation.

2° *Etude des glandes génitales.*

Dans 3 cas seulement, des gonades normales se sont développées conjointement dans le greffon et dans l'hôte. Toutes ces glandes sont des ovaires. Dans les autres associations, au contraire, des gonades typiques ne se sont développées que dans une des deux pièces, dans 7 cas chez le porte-grefe, dans 2 cas chez le greffon, alors que les glandes génitales du partenaire sont plus ou moins fortement inhibées. Les conditions initiales d'association étant à peu près les mêmes, les résultats

sont groupés suivant ces critères. Le tableau V, qui rend compte de cette classification, permet, en outre, de juger immédiatement du degré des inhibitions subies par certaines glandes génitales.

a) *Cas de développement ovarien.*

Dans ces associations, tous les porte-greffes sont des femelles typiques et seuls les greffons varient.

Greffons femelles (3 cas). Les ovaires du transplant, de structure normale, atteignent ou non la taille de ceux de l'hôte. Ils sont en général retardés et les images de prophase méiotique rares ou absentes (plus abondantes chez l'hôte correspondant).

TABLEAU V
GREFFES DE TRONCS. COMPARAISON DE LA TAILLE DES GONADES

		Taille des gonades			
		Greffon		Porte-grefe	
Cas de développement ovarien (porte-grefe femelle).	Greffon femelle.	250 × 90 100 × 170 80 × 55	160 × 70 130 × 180 160 × 110	150 × 100 130 × 230 110 × 200	130 × 100 200 × 200 230 × 140
	Greffon de sexe douteux.	100 × 70 50 × 40	100 × 50 70 × 30	180 × 190 140 × 180	190 × 190 200 × 170
	Porte- grefe mâle.	100 × 50 120 × 40 100 × 80 100 × 30	80 × 40 100 × 40 80 × 80 100 × 30	210 × 80 250 × 130 210 × 230 130 × 160	250 × 100 300 × 100 280 × 120 130 × 130
Cas de développement testiculaire.	Greffon mâle.	200 × 130 250 × 130	220 × 120 200 × 140	100 × 50 60 × 50	80 × 50 60 × 70

Chaque gonade est mesurée au niveau où elle atteint sa plus grande dimension en section transversale. Les 2 chiffres réunis par le signe × représentent pour chaque gonade les mesures respectives de la hauteur dorso-ventrale et de la largeur comprise entre les bords latéraux. Ces mesures sont données en μ . Le tableau est composé suivant la classification adoptée dans le texte.

Greffons de sexe « douteux » (2 cas). Les glandes ont une taille réduite. Dans le premier cas, elles se composent d'une enveloppe unicellulaire assez aplatie, pauvre en gonocytes, et d'un noyau médullaire mal organisé, riche en cellules germinales. Dans le deuxième greffon, les glandes

ont la structure d'une gonade indifférenciée, mais, dans la région antérieure, on reconnaît, sur deux ou trois coupes, un cordon puis un canalicule d'allure testiculaire. Nous pensons qu'il s'agit de deux mâles génétiques chez lesquels l'organogenèse de la gonade a été fortement inhibée.

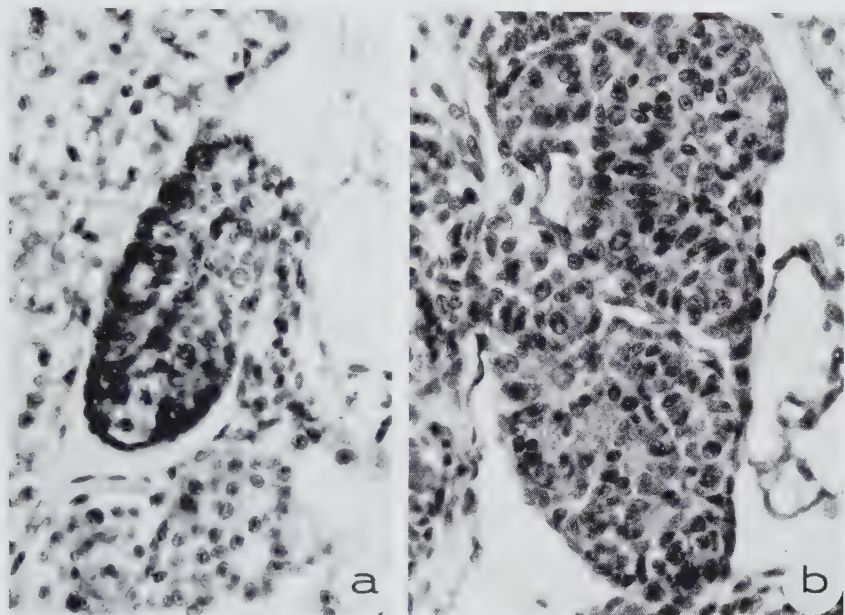


FIG. 14. — Structure des glandes génitales des parabiontes dans les expériences de greffes de trones.

a, Porte-greffe, probablement de sexe femelle.

b, Greffon correspondant. Testicule normal ($\times 360$).

b) Cas de développement testiculaire.

Dans les 7 associations, une forte inhibition affecte les gonades d'un des partenaires (tableau V).

Porte-greffes mâles (5 cas). Les hôtes présentent des testicules de taille normale et dépourvus de toute structure hétérosexuelle. Les cordons séminifères ne sont pas tassés les uns contre les autres, mais séparés par un peu de tissu mésenchymateux.

L'inhibition des gonades est totale chez deux greffons qui ne renferment que des crêtes génitales. Dans trois autres cas, se sont édifiées des gonades indifférenciées de petite taille. On note, dans la région antérieure, un fort développement des cordons du *rete*. Une assise d'épithélium cortical, peu élevé, plus ou moins riche en gonocytes, enveloppe

la glande; cette dernière contient un tissu dense, dans lequel on reconnaît parfois l'esquisse d'un cordon. Il paraît s'agir, au moins dans certains cas (teneur élevée en gonocytes corticaux), de greffons provenant de femelles génétiques.

Greffons mâles (2 cas). Les testicules du greffon peuvent atteindre la même taille que lorsqu'ils se développent chez un individu-hôte (tableau V). Leur structure est semblable et ne présente pas d'élément hétérosexuel (fig. 14).

Dans la première association, les gonades de l'hôte, de taille très réduite, montrent cependant une structure ovarienne (fig. 14). Deux bandelettes corticales latérales enserrant un peu de tissu mésenchymateux qui représente une médulla très atypique. Dans le deuxième exemple, nous ne pouvons reconnaître une quelconque orientation sexuelle dans les gonades de l'hôte restées à un stade indifférencié.

3° Discussion.

Que doit-on penser de l'effet des hormones naturelles sur les glandes génitales ? Dans les gonades, aucun phénomène net d'intersexualité n'a été observé. Les glandes subissent, au contraire, des inhibitions importantes (1). Lorsqu'elles parviennent à se développer, elles présentent une structure normale chez des parabiontes de sexe différent (greffes de régions cloacales, p. 476). Il est possible que dans les petites gonades de sexe « douteux », fortement inhibées, des structures hétérosexuelles se soient ébauchées. Ces points sont en accord avec les résultats obtenus par WITSCHI qui, à la suite de ses expériences de parabiose chez les Batraciens, écrivait, notamment en 1950 : « Si maintenant nous envisageons les *substances évocatrices*, nous ne trouvons aucune indication de transmission à distance. En parabiose, les premiers effets étant toujours de la nature d'une inhibition, les « changements de sexe » sont des réactions secondaires » (p. 226). Ces résultats rappellent aussi ceux obtenus récemment chez les Mammifères dans le cas de gonades embryon-

(1) L'inhibition de certaines gonades est-elle liée à une action hormonale ou à d'autres causes, des conditions trophiques défavorables par exemple ? Il ne semble pas que les seuls facteurs trophiques soient à envisager. En effet, des ovaires se sont normalement développés chez les deux parabiontes dans trois associations, et dans le cas d'un développement prédominant des glandes génitales d'un des partenaires, celui-ci a lieu indifféremment chez le porte-greffe ou chez le greffon. Nous ne pensons pas que l'absence d'hypophyse dans le greffon puisse suffire à expliquer certains cas d'agénésie gonadique. L'hypophyse embryonnaire n'est pas, chez le Lézard vivipare, un facteur nécessaire à l'édification de glandes génitales bien différenciées (voir chapitre V). Pour ces différentes raisons, nous considérons que ces inhibitions peuvent être provoquées par des hormones en circulation dans le système parabiotique.

naïres greffées sur des individus adultes (MACINTYRE, 1956; HOLYOKE, 1956, 1957; MACINTYRE et coll., 1959, 1960; TURNER et ASAKAWA, 1964) qui observent soit une absence d'action, soit des inhibitions, soit de faibles masculinisations des ovaires. Ces effets sont évidemment très éloignés des transformations obtenues par ET. WOLFF (1947) en greffe cœlomique chez l'embryon d'Oiseau.

Les effets observés chez le Lézard vivipare sont opposés à ceux qui caractérisent les free-martins des Bovidés. Chez ces derniers, les gonades sont transformées, alors que l'appareil génital externe ne subit pas de modifications. Au contraire, dans nos expériences, les hormones en circulation induisent la différenciation de l'appareil génital externe, mais n'influencent pas ou inhibent les gonades du parabionte.

B. EXPÉRIENCES DE CASTRATION

1. HISTORIQUE

Le rôle des gonades dans la différenciation sexuelle du tractus génital n'a été définitivement (1) mis en évidence que par les expériences de castration. Les données essentielles, dans ce domaine, ont été apportées chez le Triton par de Beaumont (1933), puis presque simultanément chez le Lapin par JOST (1946 *a* et *b*), chez le Rat par WELLS (1946), chez la Souris par RAYNAUD et FRILLEY (1946), enfin chez le Poulet et le Canard par ET. WOLFF (1949 *a*), WOLFF et WOLFF (1951).

Nous avons essayé d'obtenir, chez le Lézard vivipare, la castration par une méthode chirurgicale (DUFAYRE, 1964 *e*). Les résultats partiels obtenus jusqu'à présent ne nous paraissent pas assez significatifs pour être exposés ici. Aussi, avons-nous eu recours à la méthode des irradiations localisées, en utilisant les rayons X. Les premiers résultats de ces expériences ont été précédemment relatés (DUFAYRE, 1965 *d*).

2. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL ET RÉSULTATS GÉNÉRAUX

Nous avons réalisé 8 séries expérimentales comprenant chacune des embryons, irradiés suivant le procédé décrit plus haut (*Matériel et méthodes*), et des témoins provenant de mêmes lots et mis en culture dans des conditions identiques. Témoins et traités sont fixés à partir du stade 37, en général aux stades 38 et 39.

(1) Les résultats négatifs obtenus par MOORE (1943) ont été critiqués et leur interprétation réfutée par JOST (1947 *a*), A. RAYNAUD (1950), etc.

La mortalité est élevée. Parmi les 38 embryons irradiés et les 20 témoins, nous n'avons pu examiner en fin d'expérience que 17 irradiés et 15 témoins, ces derniers comprenant 6 femelles et 9 mâles normaux. Chez 4 individus, l'irradiation, trop postérieure, a lésé la région cloacale,



aussi les résultats ne tiennent-ils compte que des 13 embryons qui peuvent apporter des renseignements significatifs.

Nous observons des destructions plus ou moins importantes de la région moyenne du tronc. Dans la plupart des cas, une discontinuité apparaît entre les territoires antérieurs et postérieurs, au niveau de la zone atteinte par le rayonnement. Elle se manifeste tant à l'échelon morphologique (fig. 15), qu'à l'échelon anatomique.

FIG. 15. — Castration par irradiation. Cas de destruction totale des glandes génitales. Remarquer les tubercules de type mâle.

3. ETUDE DE L'APPAREIL GÉNITAL

La suppression totale des glandes génitales est difficile à obtenir. On observe différents degrés de destruction, depuis l'absence totale de crêtes génitales jusqu'à l'édification de petites gonades sexuellement différenciées. Nous classons arbitrairement ces différents exemples en trois catégories : destruction totale (5 cas), lorsqu'il n'y a pas de structure sexuelle reconnaissable; subtotale (2 cas), quand les glandes sont indifférenciées (présence simultanée de tissus corticaux et médullaires); partielle (6 cas), lorsque les rudiments de gonades ont une structure ovarienne (3 cas) ou testiculaire (3 cas).

Les canaux de Müller ne s'édifient pas dans la région moyenne du tronc voisine de la zone irradiée. Mais, généralement (1), un court canal

(1) Dans 4 cas de castration totale, les 2 cas de castration subtotale, et chez un mâle et deux femelles aux gonades partiellement détruites.

antérieur s'organise lorsque les territoires présomptifs de l'*ostium* n'ont pas été atteints par les rayons. De même, dans la région postérieure, la *plica tubæ* se soulève, mais ne renferme pas de cellules de l'épithélium müllérien. Lorsque ces formations sont absentes, il semble que cela soit dû à l'effet destructeur d'une irradiation trop étendue.

Des tubercules génitaux de type mâle (fig. 15) se sont développés dans 12 cas. Un seul embryon, dont les gonades sont complètement détruites, possède des tubercules unilobés ressemblant à des organes femelles; mais l'examen histologique indique que ces ébauches ont probablement été atteintes par les rayons (lésions du mésoderme axial).

4. DISCUSSION

La destruction, à différents degrés, des gonades conduit à l'édification de tubercules génitaux de type mâle (12 cas sur 13). Compte tenu des résultats apportés par les expériences de greffes, on peut considérer la régression des tubercules génitaux chez la femelle comme un phénomène actif, commandé par les sécrétions des ovaires embryonnaires. Le type mâle représente, alors, un type neutre. La différenciation sexuelle des organes copulateurs du Lézard vivipare s'effectue suivant un mode semblable à celui des Oiseaux (EM. WOLFF, 1950), et non comme chez les Mammifères par stimulation dans le sexe mâle. On peut alors expliquer la formation de tubercules bilobés, chez certaines femelles, par un fonctionnement tardif de l'ovaire, l'ébauche commençant à évoluer suivant le type mâle, an hormonal (1).

Le faible nombre de cas obtenus, et les larges variations de taille observées, dues probablement pour une certaine part aux lésions causées par les rayons X, n'autorisent pas à aller plus loin dans ces conclusions. Par exemple, nous ne pouvons pas déterminer si l'édification des pénis est an hormonale jusqu'à la fin du développement embryonnaire, et si, d'autre part, le type hormonalement neutre est rigoureusement semblable chez les mâles et les femelles génétiques.

Les larges destructions des formations müllériennes, dans la région moyenne du tronc, nous empêchent d'apporter des conclusions définitives sur le déterminisme exact de leur évolution. Mais cette expérimentation donne des indications intéressantes sur le comportement de l'extrémité antérieure, et postérieure, du tractus müllérien, que nous extrapolons, sous toutes réserves, à l'ensemble de l'ébauche. L'extrémité

(1) Ce point est confirmé par l'étude des cas naturels qui montre que les femelles à tubercules bilobés possèdent des ovaires plus jeunes que les autres (images de prophase de méiose rares ou absentes).

antérieure des canaux de Müller, l'*ostium* et la plaque müllérienne sont maintenus dans 4 cas de castration totale, les 2 cas de castration subtotale et chez un mâle et une femelle aux gonades partiellement détruites. A des stades correspondants, ces territoires ont disparu chez le mâle normal. Dans la région postérieure, la *plica tubæ* est toujours développée.

Quand ces ébauches manquent, elles paraissent avoir été détruites par l'irradiation. Comme chez les autres Vertébrés, les sécrétions testiculaires doivent provoquer la régression du tractus müllérien. Ces expériences ne permettent pas de déterminer les causes de l'agénésie partielle qui caractérise, en premier lieu, le sexe mâle.

C. RÉSUMÉ DU CHAPITRE I

La différenciation sexuelle des tubercules génitaux est sous le contrôle des gonades embryonnaires. Les expériences de greffes et de castrations concordent sur ce point. L'ébauche passe par un stade indifférencié, puis une hormone sexuelle gynogène provoque la régression des tubercules génitaux chez la femelle.

Les gonades embryonnaires dirigent sans doute l'évolution des canaux de Müller. Certaines expériences de greffes montrent que, même en l'absence d'épithélium müllérien, la *plica tubæ* se développe dans un greffon associé à un hôte femelle, qu'elle est au contraire réduite dans le cas d'une association avec un hôte mâle. Les expériences de castration indiquent que la régression du segment müllérien antérieur et de l'extrémité postérieure de la *plica tubæ* pourrait être provoquée par une hormone testiculaire. Nous ne possédons pas d'information expérimentale se rapportant à l'agénésie partielle des canaux chez le mâle. Il faut admettre pour le moment, comme cela fut montré expérimentalement chez le Poulet (THIÉBOLD, 1962), que l'hormone testiculaire provoque, aussi, cette agénésie.

Les hormones sexuelles, responsables de l'orientation de ces deux effecteurs, circulent dans le sang. Chez des parabiontes réunis seulement par des vaisseaux sanguins, elles déterminent une inhibition plus ou moins importante des gonades de l'un ou l'autre des partenaires. L'hormone gynogène, responsable de la régression des tubercules génitaux, ne provoque pas la formation d'un ovotestis.

II. — EFFETS DES HORMONES STÉROÏDES SUR L'ORGANOGENÈSE DE L'APPAREIL GÉNITAL

A. HISTORIQUE

1. HORMONES PURES

Les effets des traitements hormonaux chez l'adulte ne sont pas décrits ici. Le lecteur intéressé par cette question peut consulter le travail de PANIGEL (1956), celui de STEPHAN (1963) et la mise au point de FORBES (1964).

Deux groupes de Reptiles, les Chéloniens et les Crocodiliens, manifestent, dans leur structure, une bisexualité prolongée. Cette disposition a été mise à profit par les expérimentateurs qui ont bien étudié les effets des hormones génitales sur les structures homo- et hétérosexuelles des individus immatures, plus ou moins longtemps après l'éclosion. Il faut citer, pour les Crocodiliens, les recherches de FORBES (1938 *a* et *b*, 1939) chez *Alligator mississippiensis*, de GODET (1961) sur *Crocodilus niloticus* et, pour les Chéloniens, celles de RISLEY (1941) sur *Malaclemmys centrata*, de VIVIEN et STEPHAN (1958, 1959), de VIVIEN (1959) et de STEPHAN (1958, 1963) sur *Emys leprosa*. La persistance et la stimulation des territoires hétérosexuels, très généralement observées par ces auteurs, ne conduisent pas à l'inversion du sexe, car le traitement est probablement trop tardif.

A la suite de DODD (1960), nous remarquons que peu de travaux ont été consacrés jusqu'à ces dernières années au rôle que jouent peut-être les hormones génitales, pendant la vie embryonnaire, dans le mécanisme de la différenciation primaire du sexe.

Chez un Chélonien, *Chrysemys marginata bellii*, RISLEY (1940) a injecté du propionate de testostérone dès le stade gastrula. Chez les 5 femelles observées en fin de traitement, l'auteur note une masculinisation incomplète des ovaires.

Tout aussi réduites sont nos connaissances concernant les Ophidiens. HARTLEY (1945) a injecté de la testostérone et de l'œstradiol, soit à la femelle gestante, soit aux embryons du serpent ovovivipare *Thamnophis sirtalis*. L'androgène provoque une légère stimulation de la médulla ovarienne avec formation de cordons séminifères, accompagnée d'inhibition corticale; l'œstrogène inhibe le développement du testicule, sans provoquer la stimulation d'un territoire hétérosexuel.

Des résultats plus substantiels concernent les Lacertiliens. DANTCHAKOFF est le premier auteur qui ait obtenu des déviations sexuelles importantes

avec les hormones stéroïdes, en l'occurrence la féminisation d'individus mâles de *Lacerta* (probablement *L. agilis*) par administration de folliculine à l'embryon (DANTCHAKOFF, 1937, 1938; DANTCHAKOFF et KINDÉRIS, 1938).

CHARNIER (1963) injecte de la testostérone à des embryons d'*Agama agama*, avant et après la différenciation sexuelle. Il observe une masculinisation des tubercules génitaux des femelles, mais seulement une action minime sur les ovaires.

Des expériences d'injections d'hormones stéroïdes effectuées par RAYNAUD (1964 *a* et *b*) chez l'embryon d'Orvet donnent les résultats suivants :

— Le propionate de testostérone induit des phénomènes d'intersexualité faible dans l'ovaire, provoque l'hypertrophie des canaux de Wolff et des segments antérieurs des canaux de Müller, mais se montre sans effet sur les organes génitaux externes.

— Le benzoate d'œstradiol induit une sorte d'intersexualité dans le testicule (un cas); il détermine l'hypertrophie des canaux de Müller, mais également l'agénésie de l'extrémité postérieure et le dédoublement de ces conduits; la taille des organes génitaux externes est légèrement réduite.

Enfin, chez des embryons de *Lacerta viridis*, A. RAYNAUD (1965 *a*) observe des phénomènes d'intersexualité après injection de benzoate d'œstradiol.

Nous avons déjà noté les effets des hormones sexuelles sur les tubercules génitaux de *Lacerta vivipara* (DUFAURE, 1961 *b*, 1964 *b*), ainsi que certaines particularités des conduits uro-génitaux des embryons traités par les hormones œstrogènes (DUFAURE, 1962, 1964 *a*).

2. MÉLANGE D'HORMONES

Quelques auteurs ont étudié les effets de mélanges d'hormones androgènes et œstrogènes, en particulier sur l'évolution des canaux de Müller : GREENE et BURRIL (1940) chez le Rat, RAYNAUD (1940 *a*) chez le Poulet, puis chez la Souris (1940 *b*, 1942), STOLL (1948), STOLL et MARAUD (1952 *a* et *b*) et Y. LUTZ-OSTERTAG (1954) chez le Poulet. Si des effets antagonistes sont relevés chez le Rat (GREENE et BURRIL, 1940), il semble, au contraire, que chez les autres espèces on ait conclu à une action synergique des deux hormones, mais les résultats varient largement suivant les proportions des différents principes et paraissent difficiles à interpréter. Aucune expérimentation de ce genre n'a été entreprise chez l'embryon de Reptiles.

B. RELATION DES EXPÉRIENCES

Parallèlement aux premières expériences d'injections d'hormones, de l'huile d'olive pure, vecteur habituel des hormones, a été administrée à quelques lots d'embryons à des doses d'environ 2 à 3/100 de cm^3 , injectés dans la cavité amniotique.

Bien que le nombre de cas examinés soit faible, aucune anomalie n'est apparue dans la différenciation sexuelle. Nous n'avons pas observé, comme RAYNAUD (1964^b) chez l'embryon d'Orvet traité par l'huile d'arachide, de dédoublements au niveau des canaux de Müller, mais le nombre de cas est insuffisant pour conclure. Les résultats étant négatifs, nous n'avons pas poursuivi ces expériences.

1. ADMINISTRATION D'HORMONES ŒSTROGÈNES

a) *Protocole expérimental.*

Nous avons réalisé quatre séries d'expériences dans lesquelles varient : la nature chimique de l'hormone, les doses fournies, le lieu et le stade de l'injection, le moment de l'autopsie.

Les différentes hormones éprouvées comprennent :

— le benzoate d'œstradiol : Benzogynestryl « 1 » et « 5 » Roussel (1) (solutions à 1 mg et 5 mg/cm^3 dans l'huile d'olive);

— le valérianate d'œstradiol : Œstradiol Retard Pharlou (1) (solution à 10 mg/cm^3 dans l'oléate d'éthyle);

— le diéthylstilbœstrol : Stilbœstrol Borne (1) (solution huileuse à 2,5 mg/cm^3).

Les doses éprouvées, qui sont respectivement de 2, 4, 5, 10, 20, 40, 100, 150 μg , sont données en une seule fois. Des injections ont été effectuées à tous les stades de l'embryogenèse compris entre les stades 21 et 37.

Les individus sont sacrifiés vers la fin du développement embryonnaire, sauf dans une série de 25 embryons pour laquelle ils ont été fixés depuis le stade 33 jusqu'au stade 37, pour suivre l'histogenèse sexuelle et non plus pour enregistrer des effets à un stade plus ou moins tardif.

En tout, 216 embryons ont été injectés, et 141 examinés en fin de traitement. L'étude histologique a porté sur 118 pièces. Parmi les 33 embryons, témoins, provenant de mêmes lots, 21 ont été étudiés en fin d'expériences.

(1) Nous remercions les laboratoires Roussel, Pharlou et Borne qui nous ont gracieusement fourni ces substances.

b) *Généralités sur les effets des hormones œstrogènes.*

Les hormones œstrogènes sont assez toxiques. Le taux de mortalité varie entre 30 et 50 % des individus traités. A un même stade, les embryons traités peuvent être légèrement plus petits que des individus témoins. Les mésonéphros et les canaux de Wolff (DUFURE, 1962) sont souvent le siège de malformations. Ces effets pathologiques varient beaucoup suivant le stade du traitement et les doses utilisées. Le taux de mortalité et de malformations urinaires est surtout élevé pour des embryons traités avant le stade 30. Les doses inférieures à 40 µg sont les moins toxiques.

Les trois hormones utilisées agissent de la même façon. Néanmoins, certains effets sont un peu plus accentués avec le diéthylstilbœstrol.

A l'exception de quelques cas particuliers dans lesquels les différents organes génitaux ont subi des inhibitions importantes, le sexe se reconnaît bien dès la dissection de l'embryon. L'examen histologique ne laisse subsister aucun doute à ce sujet. Aucun phénomène d'intersexualité n'étant apparu, et la proportion sexuelle étant à peu près normale, il est vraisemblable que le phénotype sexuel correspond au génotype.

c) *Effets sur les gonades.*

De taille normale ou réduite, les gonades des embryons femelles conservent une forme et une structure typiques. Par rapport aux embryons témoins, la différenciation s'effectue un peu plus lentement, ce qui se traduit, en particulier, par un retard dans l'apparition des phases de méiose.

Chez le sexe mâle, dans tous les cas étudiés, quels que soient le stade de l'injection, la nature et la dose du produit administré, le site où est déposée l'hormone, les glandes génitales montrent, sans ambiguïté, une structure testiculaire. Pour certains individus traités avant le stade 33, on rencontre différentes formes d'inhibitions : diminution du nombre de cordons testiculaires avec envahissement de la glande par des éléments mésenchymateux, modifications de la structure des cordons. Parfois, on observe la persistance de lambeaux localisés d'un mince cortex unicellulaire.

d) *Effets sur les canaux de Müller.*

Chez l'embryon femelle, les canaux de Müller se présentent sous trois aspects différents.

1° Chez certains individus, le tractus müllérien est normal et ne paraît pas stimulé.

2° Chez d'autres, existent différentes formes d'agénésies, accompagnées

ou non de malformations des canaux de Wolff (DUFURE, 1962). Elles affectent surtout des individus qui ont été traités à un stade précoce (stades 25 à 29).

3° Enfin, on observe des phénomènes de stimulations atypiques chez de nombreux individus (formation de canalicules müllériens secondaires). Nous n'insistons pas sur ce phénomène, décrit à différentes reprises

FIG. 16.

Effets des hormones œstrogènes sur les embryons mâles. Embryon injecté au stade 33-34 et fixé au stade 39. Remarquer la présence de segments müllériens antérieurs dont les flèches indiquent l'extrémité.



(DUFURE, 1962, 1964 a, 1965 b) et qui fera l'objet d'un mémoire particulier.

Chez l'embryon mâle, l'administration d'hormones œstrogènes ne provoque pas la formation de canaux de Müller complets. Chez un seul individu, nous avons observé le développement et le maintien du canal de Müller droit. En général, les segments müllériens antérieurs, seuls formés, ont plus ou moins disparu. Mais chez quelques individus traités vers les stades 33 à 34, subsistent de courts segments antérieurs (fig. 16).

e) Effets sur les tubercules génitaux.

Chez le sexe femelle, lorsque l'hormone est administrée entre les stades 20 et 32, l'embryon en fin d'expérience ne présente pas de tubercules génitaux, ou des tubercules de taille très réduite. La taille la plus faible qui ait été trouvée est de 0,025 mm. Différentes autres valeurs ont été relevées, toutes inférieures à la largeur du tubercule d'une femelle non traitée, qui est en moyenne de 0,2 mm à un stade correspondant.

Pour des injections effectuées à partir du stade 33, les tubercules se forment toujours. Chez les individus traités au stade 33, ils ont en fin

d'expérience une taille identique ou inférieure à ceux d'une femelle normale. A partir du stade 34, ils ont à peu près les dimensions de ceux d'une femelle normale. Ces tubercules ne sont jamais bilobés.

Pour le sexe mâle, chez tous les individus traités jusqu'au stade 32, on observe, comme chez les femelles, des agénésies importantes des tubercules génitaux se traduisant par leur absence complète.



FIG. 17.

Effets des hormones œstrogènes sur les embryons mâles. Même embryon que la figure 16. Région cloacale à un plus fort grossissement. Les tubercules génitaux sont de type femelle.

En effectuant les injections au stade 33, on obtient la formation de tubercules unilobés (fig. 17), semblables à ceux d'une femelle normale, de taille inférieure ou voisine (largeur du gland : 0,15 à 0,30 mm). A partir du stade 35 et jusqu'au stade 37, il se forme toujours un tubercule bilobé de type mâle, dont la taille est très inférieure à la normale, et d'autant plus réduite que l'injection fut plus précoce. Au stade 38, il n'est plus possible d'empêcher la formation d'un pénis normal.

2. ADMINISTRATION D'HORMONES ANDROGÈNES

a) *Protocole expérimental.*

Ces expériences ont été menées comme les précédentes et diffèrent seulement par la nature et la dose des produits éprouvés.

Nous avons utilisé :

le propionate de testostérone : Perandrone « 25 » et « 50 » Ciba (1) (solution à 25 et 50 mg/cm³ dans l'huile d'olive);

(1) Nous remercions les laboratoires Ciba, Pharlon et Gremy-Longuet qui nous ont gracieusement fourni ces produits.

— l'œnanthate de testostérone : Androtardyl Pharlon (1) (solution à 50 mg/cm³ dans l'huile d'olive);

— le dipropionate d'androstène-diols : Stenandiol « 25 » Gremy-Longuet (1) (solution à 25 mg/cm³ dans l'oléate d'éthyle).

Les doses éprouvées sont respectivement de 25, 50, 100, 250 et 500 µg.

Sur 172 embryons traités, 117 ont été examinés, en général à partir du stade 38. Ces derniers comprennent 61 mâles, 45 femelles et 11 individus dont le sexe n'a pu être déterminé. L'étude histologique a été effectuée sur 52 pièces. 34 embryons témoins ont été mis en culture, et 33 d'entre eux étudiés en fin d'expérience.

b) Généralités sur les effets des hormones androgènes.

Il convient de séparer le cas du dipropionate d'androstène-diols de celui des deux esters de testérone éprouvés. L'androstène-diols est une hormone polyvalente à effets androgènes prédominants. Chez l'embryon de Poulet, elle agit comme l'androstérone, masculinisant les femelles mais féminisant les mâles (WOLFF, STRUDEL et WOLFF, 1948). Chez le Lézard vivipare, aux doses de 25 et 50 µg, l'androstène-diols est sans effet sur le développement de l'embryon. L'hormone n'affecte pas, ou peu, l'organogénèse de l'appareil génital.

Avec la testostérone, la mortalité est importante pour les doses supérieures à 100 µg, générale au-dessus de 500 µg. Entre 100 et 250 µ, le pourcentage de malformations est élevé. Les organes atteints sont surtout la tête et l'extrémité des membres (autopode). De nombreux embryons font de l'œdème. Enfin, les canaux de Wolff sont souvent dilatés à l'extrême, tandis que leur paroi est amincie, phénomène que nous n'interprétons pas comme une stimulation atypique des canaux par l'hormone mâle, mais que nous attribuons plutôt à un dérèglement du métabolisme de l'eau probablement lié au phénomène d'œdème généralisé, observé chez de nombreux embryons. A ces doses apparaissent également des hypomorphoses du corps et de ses différents organes, en particulier les glandes génitales dont l'évolution est bloquée à un stade indifférencié, ainsi que des agénésies des canaux de Müller et des tubercules génitaux. Les doses inférieures sont mieux supportées et donnent des résultats plus significatifs (2). Néanmoins, on observe encore des hypomorphoses des glandes génitales mâles et femelles, et, chez les animaux traités avant le stade 33, une agénésie plus ou moins importante des tubercules génitaux. La testostérone est fortement toxique, aux doses que l'on doit utiliser.

(1) Nous remercions les laboratoires Ciba, Pharlon et Gremy-Longuet qui nous ont gracieusement fourni ces produits.

(2) En particulier au niveau des canaux de Wolff qui ne sont plus dilatés, mais dont l'épithélium est parfois épaissi (nette stimulation) tout en conservant une seule assise cellulaire.

A la dissection, les mâles et les femelles se reconnaissent bien d'après le degré de développement des canaux de Müller et la forme des gonades, quand les malformations ne sont pas trop importantes. L'examen histologique des glandes génitales confirme toujours cette diagnose du sexe.

c) Effets des hormones androgènes sur les gonades.

Chez les femelles, les gonades gardent toujours une structure ovarienne nette. On observe différents degrés d'inhibition portant sur la taille de la glande, le nombre de gonocytes corticaux qui peut être inférieur à la normale, de même que le nombre de gonies en prophase méiotique. Aucun élément hétérosexuel ne s'est développé. Les tissus médullaires sont généralement massifs, sans structure organisée. Dans un cas, ils présentent quelques lacunes de grande taille qui rappellent celles qui apparaissent dans l'ovaire de l'embryon d'Oiseau au moment de la dégénérescence de la médulla.

Les testicules, de petite taille, contiennent des cordons typiques. Ces derniers ont la même structure que chez un individu témoin et en particulier ne sont pas creusés d'une lumière centrale. Les hormones mâles ne hâtent pas l'édification des testicules. Au contraire, il n'est pas rare d'observer la persistance de lambeaux corticaux.

Dans 11 cas, les gonades atteintes d'une hypomorphose très prononcée sont mal différenciées. On reconnaît, en général, une médulla sans structure définie, entourée d'une mince assise corticale. Parfois s'esquisse, semble-t-il, une évolution dans le sens mâle (présence de cordons de structure atypique) ou femelle (cortex plus épais).

d) Effets des hormones androgènes sur les canaux de Müller.

Chez les femelles, la plupart des individus traités par 250 mg de testostérone avant le stade 30 présentent des agénésies étendues des canaux de Müller, toutes liées à d'importantes malformations de l'appareil urinaire. Dans les autres cas, les canaux de Müller sont normalement constitués (fig. 18) et ne montrent aucune image de nécrose ou de dégénérescence.

Chez les embryons mâles, avec des doses moyennes de 25 à 50 μ g, les tronçons müllériens antérieurs persistent pour des injections effectuées jusqu'au stade 32-33 environ. Cet effet s'observe aussi avec l'androstènediol. Les embryons témoins, qui se sont développés dans les mêmes conditions, présentent des reliquats müllériens moins importants. L'histologie montre que ces tronçons chez les embryons traités ont subi une régression de leur extrémité antérieure où l'*Postium* s'efface plus ou moins. Leur diamètre, très irrégulier, augmente en direction caudale. Vers

l'extrémité postérieure de ces segments (qui se situe à des niveaux différents suivant les individus, mais en général un peu en avant des gonades), le cordon ou le canal se dilate sur une longueur de 20 à 30 μ . On serait

FIG. 18.

Effets des hormones androgènes sur les embryons femelles. Tubercules génitaux développés suivant le type mâle chez une femelle traitée au stade 32 par 25 microgrammes de testostérone. Noter la présence des canaux de Müller.



tenté de croire que cette dernière portion est stimulée. Il semble plutôt qu'elle ait échappé à une légère inhibition qui s'est exercée sur le reste de la formation müllérienne.

e) Effets des hormones androgènes sur les tubercules génitaux.

Différents cas doivent être considérés suivant la nature de l'hormone, la dose administrée et le stade de l'intervention.

1° Aux doses utilisées (25 et 50 μ g), l'androstène-diol est sans effet sur les tubercules génitaux. Ils s'édifient quel que soit le stade du traitement, se différencient conformément à leur sexe génétique, et ne sont ni stimulés, ni inhibés, ainsi que le montre la comparaison avec les témoins.

2° La testostérone, pour des doses égales ou supérieures à 250 μ g, administrée avant le stade 33, provoque une agénésie plus ou moins importante des tubercules génitaux chez les embryons des deux sexes.

3° Des quantités inférieures de cette hormone n'empêchent plus l'édification de tubercules, d'aspect plus ou moins typique, mais exercent des effets différents (agénésie partielle, malformations, stimulations), suivant

le stade de l'injection. Vers les stades 32-33 à 33, l'hormone produit un effet stimulant très net sur les tubercules de la femelle (fig. 18), qui peuvent dans certains cas se développer suivant le type mâle bilobé. Cet effet prend une caractère plus atypique chez le mâle dont les tubercules paraissent œdémateux.

En effectuant les traitements à des *stades ultérieurs*, l'hormone mâle ne modifie plus l'évolution de ces organes.

3. ADMINISTRATION D'UN MÉLANGE D'HORMONES

a) *Protocole expérimental.*

Nous avons utilisé le mélange androtardyl-œstradiol *Pharlon* qui est une solution dans l'huile d'olive d'œnanthate de testostérone et de valérianate d'œstradiol, titrée respectivement à 90,2 mg et 4 mg/cm³. Les embryons ont reçu une dose de 90 à 180 µg de testostérone, pour 4 à 8 µg d'œstradiol.

b) *Relation des résultats.*

Sur 35 individus injectés, 31 d'entre eux, comprenant 14 mâles et 17 femelles facilement reconnaissables, ont été examinés en fin d'expérience.

La mortalité est presque nulle et aucune anomalie corporelle n'a été observée, exception faite d'une faible réduction de la taille.

Dans la plupart des cas, le sexe se reconnaît bien, à l'autopsie, grâce à la forme des gonades et au degré de développement des canaux de Müller. Mais tous les individus traités sont dépourvus de tubercules génitaux. On observe généralement une dilatation modérée des canalicules antérieurs des mésonéphros et des canaux de Wolff, ou parfois une augmentation de l'épaisseur de l'épithélium du conduit wolffien. Les gonades ont, dans la majorité des cas, une structure typique.

Quelques variations individuelles doivent néanmoins être signalées. Nous avons observé chez deux femelles des proliférations atypiques des canaux de Müller, semblables à celles qu'induisent les œstrogènes. Chez trois mâles, les formations müllériennes comprennent deux courts segments antérieurs, nettement stimulés, alors que les gonades ont une structure testiculaire franche. Deux autres mâles possèdent des canaux de Müller anormalement développés en longueur. Chez l'un, la formation gauche est complète, la droite limitée à un segment cranial. Chez l'autre, les deux ébauches, de faible diamètre et mal différenciées, s'étendent jusqu'à la région postérieure, sans toutefois atteindre le cloaque. L'étude

des gonades est assez significative. Dans les deux cas, les glandes, de taille réduite, présentent un mince cortex unicellulaire renfermant de rares gonocytes. Il s'agit probablement d'individus dont la différenciation sexuelle a été retardée.

C. DISCUSSION

Contrairement aux résultats obtenus chez les Oiseaux (WOLFF et GINGLINGER, 1935; WILLIER et coll., 1935; DANTCHAKOFF, 1935), chez un Mammifère primitif (BURNS, 1950, 1959) et chez deux Reptiles Lacertiliens (DANTCHAKOFF, 1937, 1938; RAYNAUD, 1965 *a*), pour ne citer que les Amniotes, nous n'avons observé aucun phénomène d'intersexualité dans les gonades du Lézard vivipare traité par différentes hormones stéroïdes. A cet égard, le cas que nous étudions est à rapprocher de celui des Mammifères placentaires (Rongeurs, embryon de Veau). Les effets obtenus chez d'autres Reptiles, en particulier chez un Chélonien par RISLEY (1940) et chez un Ophidien par HARTLEY (1945), ne nous paraissent guère plus probants.

Les différents traitements hormonaux provoquent une inhibition des gonades; celle-ci est d'autant plus accentuée que l'injection est plus précoce ou la quantité d'hormone plus importante. C'est, vraisemblablement, à ces phénomènes d'inhibition que sont dues les persistance de lambeaux corticaux observées sur les testicules, après un traitement par les hormones androgènes. Nous souscrivons, pour notre matériel, à la conception de STOLL et MARAUD (1952 *a*) sur l'effet paradoxal des hormones androgènes chez l'embryon de Poulet mâle : celui-ci ne serait pas dû à des propriétés féminisantes de ces substances, mais à une *action indirecte*, résultant d'une inhibition de la fonction endocrine normale de la glande, soit une castration physiologique (1). Cette notion a été exposée par GALLIEN (1959), sous le terme d'*effet différentiel*, pour expliquer certains résultats paradoxaux obtenus chez les Batraciens. Elle correspond aux conceptions de WITSCHI, pour lequel l'inversion du sexe débute par une inhibition. Les effets des hormones œstrogènes doivent être également de cette nature chez le Lézard vivipare. En effet, si l'injection de ces substances provoque la persistance de résidus corticaux, ces derniers ne sont pas stimulés. Nous obtenons la première phase de l'inversion du sexe, c'est-à-dire l'inhibition du territoire hétérologue à l'hormone; mais celle-ci n'est pas suivie d'un développement du territoire homologue, soit

(1) De même la persistance de tronçons müllériens, chez le sexe mâle, ne paraît pas pouvoir être attribuée à des propriétés féminisantes de la testostérone ou de l'androstène-diol, mais à un *effet indirect* résultant de l'affaiblissement de la fonction testiculaire.

parce qu'il a été lui aussi inhibé du fait d'une intervention trop précoce ou trop brutale, soit parce qu'il est incompetent génétiquement.

Dans nos expériences, des agénésies des canaux de Müller souvent associées à des malformations de l'appareil urinaire sont observées chez l'embryon femelle après l'injection d'hormones androgènes, mais aussi après celle d'hormones œstrogènes, lorsque des quantités importantes de ces différentes substances sont administrées précocement. GAARENSTROOM (1939) a signalé que l'œstradiol pouvait ralentir la croissance des canaux de Müller chez l'embryon de Poulet. Aussi, avec STOLL (1948, 1950), STOLL et MARAUD (1952 *b*), nous nous demandons si ces phénomènes ont une signification physiologique. Ne traduisent-ils pas, plutôt, l'effet tératogène sur un organe en voie de développement de corps chimiques dont la toxicité est, par ailleurs, bien connue ? Des doses moins élevées d'hormones androgènes ne provoquent ni régressions, ni nécroses, aussi localisées soient-elles, des canaux de Müller des embryons femelles. Nous ne pouvons trouver, dans notre expérimentation, de preuves de l'intervention de telles substances dans les phénomènes naturels d'agénésie et de régression chez l'embryon mâle.

L'injection d'hormones œstrogènes n'est pas suivie du développement de canaux de Müller complets chez l'embryon mâle. Néanmoins, on observe le maintien des tronçons müllériens antérieurs lorsque ces hormones sont administrées à des stades définis et tardifs (stades 33 à 34). Ce dernier phénomène peut être attribué à une suppression de la fonction endocrine du testicule (castration physiologique). ET. WOLFF (1950) explique, ainsi, la stabilisation des canaux de Müller chez les embryons de Poulet mâles, traités par l'œstradiol.

L'agénésie des tubercules génitaux provoquée par les hormones androgènes et œstrogènes, administrées à des stades précoces, constitue un phénomène extra-physiologique. Au moment de sa formation, l'ébauche est très réceptive aux hormones stéroïdes. Entre les stades 32-33 et 34 environ, les tubercules génitaux répondent de façon plus typique aux injections d'hormones : inhibition chez le mâle après l'administration d'une hormone femelle, stimulation chez la femelle après celle d'une hormone androgène. Les résultats obtenus avec les hormones œstrogènes corroborent les données des précédentes expériences de greffes et de castration. La régression des tubercules génitaux, chez l'embryon femelle, doit être provoquée par l'intervention d'une hormone de nature stéroïde, comme cela a été mis en évidence chez les Oiseaux (WOLFF et WOLFF, 1947 *a* et *b*; EM. WOLFF, 1950).

La réceptivité des tubercules génitaux aux hormones stéroïdes se modifie au cours de l'embryogenèse. L'intervention de l'hormone œstrogène doit avoir lieu à un *stade critique* qui est approximativement le stade 33 (DUFAURE, 1964 *b*). Cette notion confirme notre hypothèse concer-

nant l'apparition de tubercules bilobés chez certaines femelles : si les hormones agissent assez tôt, elles empêchent la formation du gland bilobé, si elles agissent au-delà du *stade critique*, la bilobation apparaît.

La mise à l'épreuve d'un mélange d'hormones n'apporte pas de résultats nouveaux. Nous notons, néanmoins, l'existence d'une action synergique de la testostérone et de l'œstradiol. Elle s'exerce : d'une part sur les tubercules génitaux où les deux hormones administrées, ensemble, provoquent une agénésie totale, alors que, chacune d'elles, aux mêmes doses, n'entraîne que des agénésies partielles; d'autre part, sur les canaux de Müller du mâle pour lesquels des persistances importantes ont été parfois notées. La signification de cette synergie a été discutée par STOLL et MARAUD (1952 *a* et *b*).

D. RÉSUMÉ DU CHAPITRE II

L'administration d'hormones œstrogènes, d'hormones androgènes, ou d'un mélange des deux principes ne provoque pas de phénomènes d'intersexualité chez l'embryon de Lézard vivipare. L'expérimentation faisant intervenir ces substances ne donne que peu d'indications sur l'intervention éventuelle d'hormones de nature stéroïde dans la différenciation du sexe. Les phénomènes d'inhibition des gonades et des canaux de Müller ne paraissent pas rentrer dans le cadre d'une physiologie normale et pourraient plutôt traduire une incompétence des ébauches. Au contraire, il est hautement probable qu'une hormone stéroïde provoque, normalement, la régression des tubercules génitaux chez la femelle.

III. — EFFETS DES GONADOSTIMULINES HYPOPHYSAIRES SUR L'ORGANOGENÈSE DE L'APPAREIL GÉNITAL

A. HISTORIQUE

D'après PONSE (1949), les effets paradoxaux ou inhibiteurs, provoqués parfois dans les gonades par les hormones de synthèse, ne seraient pas dus à une action directe sur la glande génitale, mais à une dépression hypophysaire engendrée par l'hormone à dose trop élevée (voir p. 277, 312, 318, 330). L'administration d'une gonadostimuline peut corriger ces effets (PUCKETT, 1940). DANTCHAKOFF (1939), qui croyait plutôt à une action dépressive des stéroïdes sur la gonade elle-même, a traité simultanément l'embryon de Lézard par l'œstradiol et par une hormone gonado-

trope. Ce procédé lui a permis d'accentuer la féminisation déjà obtenue avec la folliculine (1937, 1938), en particulier sur les gonades et sur les oviductes. D'autres faits (1) plus difficiles à expliquer ont été signalés. CRAINICEANU et PREDA (1954) ont montré qu'en élevant depuis le stade gastrula des têtards d'une race différenciée de *Rana temporaria* en présence d'hormones gonadotropes choriales, ceux-ci donnent à l'état adulte 100 % d'individus femelles. IWASAWA (1958), à la suite d'injections d'extraits hypophysaires, effectuées, avant la métamorphose, à des têtards du Batracien *Rhacophorus schlegelii*, a observé une féminisation des glandes génitales. BURGOS et PISANO (1958, 1962) ont obtenu l'inversion sexuelle totale du têtard de *Bufo arenarum* en employant des gonadostimulines hypophysaires hautement purifiées. PREDA et BILTUI-MOSOIGO (1959) ont signalé que l'administration d'hormone gonadotrope chorale entraîne la féminisation des gonades de l'embryon de Poulet mâle. Enfin, STEPHAN (1963) a remarqué que la gonadotrophine chorionique induisait la féminisation des mâles immatures chez la tortue *Emys leprosa*.

L'existence de tels effets morphogènes — dont on ne comprend pas très bien la signification — nous a amené à éprouver l'action de ces substances sur l'embryon de Lézard vivipare. Les premiers résultats obtenus chez cette espèce sont consignés dans deux notes préliminaires (DUFAURE, 1964 c, 1965 a).

B. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Nous avons utilisé la Gonadormone Byla (2). Il s'agit d'un extrait purifié et lyophilisé d'hypophyse de cheval contenant en proportions sensiblement égales la F.S.H. et la L.H. (3). Les œufs étant préparés suivant la technique habituelle, l'hormone est déposée, sans dilution préalable, sur l'allantoïde de l'embryon où elle se dissout progressivement en quelques minutes et paraît être vite absorbée. Une dose constante de 10 unités-souris est partagée entre x embryons (x varie de 3 à 7) et $\frac{10}{x}$ U.S. est la dose approximative reçue par chaque embryon. L'hormone est administrée en une seule fois, à différents stades de l'embryogenèse compris entre les stades 29 et 33.

(1) Nous n'envisageons pas dans ce court historique les différents travaux qui ont montré que dans certains cas les gonadostimulines provoquent une maturation précoce de la gonade embryonnaire et juvénile, mais toujours conformément au sexe génétique.

(2) Nous remercions les laboratoires Byla qui nous ont gracieusement fourni ce produit.

(3) Les fabricants nous ont signalé toutefois que la proportion des deux principes peut varier pour différentes causes, et en particulier par suite d'une chute d'activité plus rapide des facteurs F.S.H., en fonction du temps et des conditions de conservation.

Deux séries expérimentales ont été réalisées (séries 1963 et 1964) (tableau VI). Elles diffèrent surtout par les doses d'hormones administrées : dose moyenne de 1 à 2 U.S. dans la série 1963, de 2 à 3 U.S. dans la série 1964. Dans chaque lot, la moitié des individus sont traités, tandis que les autres ont une destinée différente suivant les séries. Dans la première série, ces embryons ne reçoivent pas d'hormones et servent de témoins; dans la deuxième série, ils subissent un traitement particulier (voir chapitre IV).

TABLEAU VI

ADMINISTRATION DE GONADOSTIMULINES HYPOPHYSAIRES.
RÉSULTATS GÉNÉRAUX

	Nombre d'embryons traités	Nombre d'embryons témoins	Nombre de traités examinés		Nombre de témoins examinés	
			Mâle	Femelle	Mâle	Femelle
Série 1963	20	19	11	8	9	8
Série 1964	25	—	10	14	—	—

C. RELATION DES RÉSULTATS

1. EFFETS GÉNÉRAUX

Aux doses pratiquées, l'extrait hypophysaire n'est pas toxique. Sur 45 embryons traités, 3 individus seulement sont morts. A l'exclusion de l'appareil génital, aucune anomalie morphologique ou anatomique n'a été observée.

A la dissection, presque tous les embryons traités présentent des canaux de Müller d'une femelle typique (fig. 19), et leur sexe ne peut, par ce seul caractère, être reconnu. Dans la série 1963, l'organogenèse des tubercules génitaux n'est pas modifiée (fig. 19 a) et l'aspect de ces organes permet de distinguer facilement les sexes. L'étude histologique des gonades confirme cette diagnose. Aux doses plus élevées (série 1964), la taille des tubercules génitaux peut être réduite chez certains mâles (fig. 19 b). De plus, l'histologie montre que les testicules subissent certaines transformations.

On observe donc, dans ces expériences, une modification de l'appareil génital des embryons mâles. Les embryons femelles sont peu affectés par le traitement. Leur cas ne sera pas traité ici.

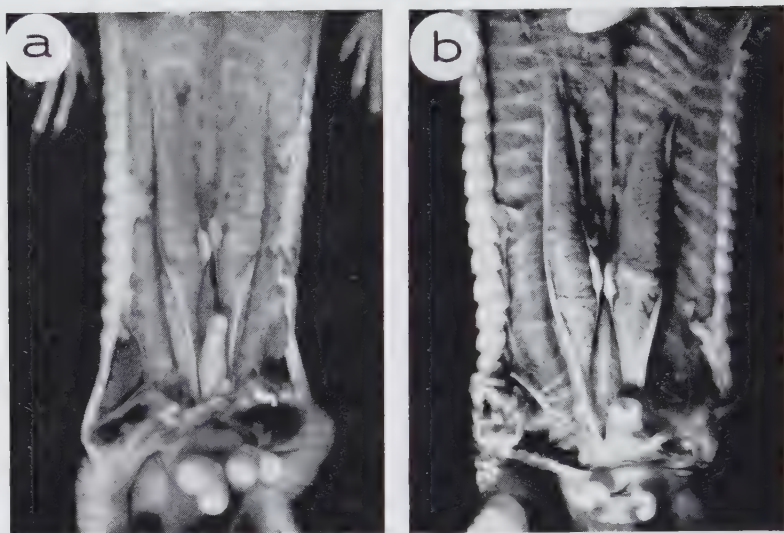


FIG. 19.

- a)* Embryon mâle traité par 1,5 U.S. de Gonadormone (série 1963).
b) Embryon mâle traité par 2,5 U.S. de Gonadormone (série 1964).

2. EFFETS SUR LES GONADES

La gonade peut conserver la forme d'un testicule ou subir des modifications morphologiques qui contribuent à lui conférer un aspect ovarien.

Les changements les plus importants affectent la structure des gonades. Pour essayer de les classer, trois types d'intersexualité ont été définis qui correspondent à trois degrés de féminisation de la gonade. Les variations portent sur la modification progressive de la médulla et le développement corrélatif d'un cortex de plus en plus important en volume.

Nous avons vu dans la première partie que l'ovaire embryonnaire, à partir du stade 34, est rempli d'un tissu médullaire. Mais celui-ci ne peut être assimilé, tant par son origine — il s'agit d'une néoformation tardive — que par sa structure, au contenu du testicule. Il y a donc deux types de médulla. A l'intérieur des gonades intersexuées, deux tissus différents se trouvent juxtaposés et nous employons, pour les désigner, les termes de médulla de type mâle et médulla de type femelle, qui seront justifiés par la suite. Le tissu de type mâle est constitué par des cellules d'assez grande taille, bien distinctes les unes des autres, et, de ce fait, les noyaux cellulaires paraissent largement séparés; de nombreux gonocytes s'y trouvent dispersés et cet ensemble de caractères contribue à donner

à ce tissu, sur les coupes histologiques, une teinte générale claire. Volontairement, nous n'introduisons pas, comme critère, la disposition topographique des cellules qui varie beaucoup dans ce tissu chez les intersexués. Au contraire, dans le tissu de type femelle, les cellules sont de plus petite taille, tassées les unes contre les autres, les noyaux sont rapprochés, se chevauchant souvent, les gonocytes sont rares, voire absents, et l'ensemble confère aux images histologiques une teinte plus sombre.

1° *Type faible d'intersexualité.* — Le contenu de la gonade est constitué par une médulla de type mâle, mais dont l'arrangement peut varier depuis la disposition en cordons séminifères jusqu'à la formation de massifs inorganisés, non délimités par une membrane basale mais qui forment, néanmoins, un ensemble compact. Dans un cas particulier, les cordons séminifères sont bien formés, typiques, mais peu nombreux et plus ou moins isolés au sein d'un abondant mésenchyme : ces images d'inhibition rappellent celles qui ont été observées dans d'autres expériences (greffes, administrations de stéroïdes). Les persistances corticales sont plus ou moins importantes : gonocytes isolés au sein d'une assise corticale aplatie ou véritable cortex unicellulaire. Dans ce dernier cas, il s'agit d'une formation qui recouvre presque toute la glande, mais marque un développement prépondérant à la surface ventrale.

2° *Type moyen d'intersexualité.* — La glande génitale se divise en deux territoires superposés dorso-ventralement, de structure et probablement de potentialités différentes (fig. 20). Cette division est parfois soulignée, à la limite entre les deux zones, par un net rétrécissement de la gonade, ainsi que par la disposition particulière de certaines travées mésenchymateuses. Le territoire dorsal est recouvert par une assise de cellules aplaties. Sous cette enveloppe se trouve un abondant mésenchyme, riche en vaisseaux sanguins. Le centre est occupé par un massif de cellules épithéliales représentant, incontestablement, une médulla de type mâle; parfois s'y reconnaissent des cordons plus ou moins typiques, mais le plus souvent les cellules forment des travées à disposition, approximativement, concentrique. Antérieurement, les cordons du *rete testis*, engagés dans le mésorchium, sont bien différenciés. Dans le territoire ventral, une médulla de type femelle occupe tout l'espace disponible à l'intérieur de la glande, laissant peu de place aux éléments mésenchymateux. Quelques rares cordons de type mâle s'y rencontrent parfois. La surface est recouverte par un cortex d'épaisseur variable, uni- ou pluricellulaire, formant des nodules et présentant, par endroits, les épaissements latéraux caractéristiques de Povaire. Nous interprétons la région dorsale comme un territoire mâle ayant subi une forte inhibition, tandis que la région ventrale s'oriente nettement vers le sexe femelle.



FIG. 20.

Coupe transversale dans une glande d'un type moyen d'intersexualité. Les flèches marquent la séparation entre les territoires mâles (*m*) et les territoires femelles (*f*) ($\times 280$).

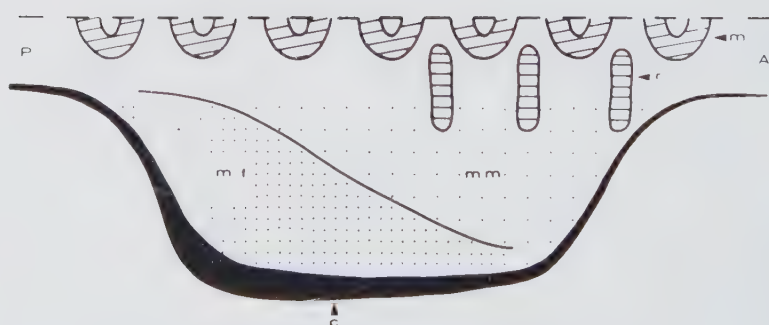


FIG. 21. — Représentation schématique d'une coupe longitudinale dans une glande intersexuée (action des gonadostimulines).

A : région antérieure; *P* : région postérieure; *c* : cortex; *m* : mésonéphros; *mf* : médulla de type femelle; *mm* : médulla de type mâle; *r* : cordons du rete.

3° *Type fort d'intersexualité*. — Les gonades ne diffèrent pas essentiellement du type précédent et leur organisation se comprend bien à partir de celui-ci. L'évolution se fait par un développement des territoires femelles en direction dorsale. De plus, aux différences régionales dans le sens dorso-ventral, se superposent des différences dans le sens antéro-postérieur (fig. 21). Rappelons à ce propos que dans une gonade normale, les structures hétérosexuelles se rencontrent dans des régions opposées suivant le sexe : avant de disparaître, les cordons du *rete* sont antérieurs dans l'ovaire, et le résidu cortical est postérieur dans le testicule. Cette disposition se retrouve dans les gonades intersexuées. Tout à fait antérieurement, les territoires mâles occupent presque tout le volume de la glande, puis progressivement le volume du territoire femelle augmente de telle sorte que dans la région postérieure la glande est presque entièrement féminisée. Le cortex est plus développé que dans les cas précédents, tant en surface qu'en épaisseur. De plus, se trouve généralisée la disposition qui caractérise l'ovaire : l'épaississement cortical se fait suivant deux bandes latérales, séparées par une zone ventrale plus mince (fig. 22). Le volume du cortex reste toujours moins important que chez une femelle et aucune image de méiose n'a été décelée. La surface de la glande est le siège de mouvements d'invagination. Des invaginations identiques ont été notées par VIVIEN (1959) chez le jeune mâle d'*Emys leprosa* traité par le stilbœstrol. Ces images sont à rapprocher de celles qui ont été observées par WOLFF et HAMPÉ (1950) chez l'embryon de Poulet (cordons séminifères s'ouvrant dans la cavité générale), et doivent procéder d'un même mécanisme. Il est permis de penser que la formation de la médulla de type femelle est en partie liée à ces mouvements, mais des cellules paraissent également se détacher du cortex non invaginé. Ce processus

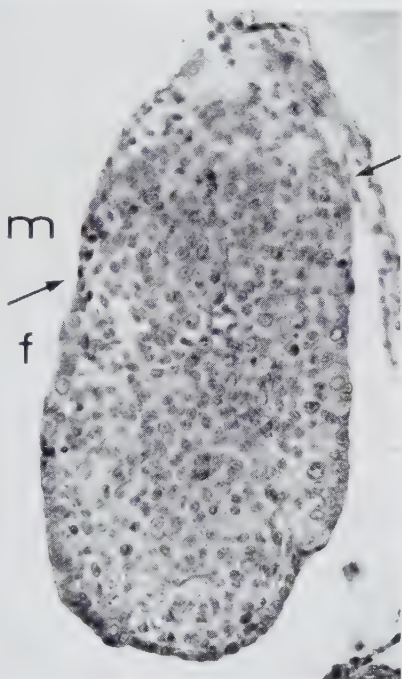


FIG. 22. — Coupe transversale dans une glande d'un type fort d'intersexualité. Même légende que figure 20 ($\times 280$).

doit être homologue de celui qui assure la mise en place du massif médullaire définitif dans l'ovaire normal.

Les transformations sont d'autant plus importantes que les individus sont traités à un stade plus jeune, ou par une dose plus élevée. Le type faible a surtout été observé chez les embryons traités aux stades 33 et 32-33 et chez les embryons de la série 1963 traités par 1 à 2 U.S., et le type fort chez ceux qui ont été mis en expérience aux stades 29 et 30 et qui ont reçu de 2 à 3 U.S.

3. EFFETS SUR LES CANAUX DE MÜLLER

Rappelons que, chez le mâle normal, les canaux de Müller ne s'édifient pas complètement et que les injections d'hormones stéroïdes ne permettent pas de supprimer les causes de cette agénésie. Au contraire, dans ces expériences, les canaux de Müller se développent régulièrement, chez les embryons mâles, jusqu'au cloaque. Dans 2 cas, seulement, sur 21 individus examinés, les canaux n'atteignent pas tout à fait le cloaque.

Le degré de différenciation varie suivant les individus et des dissymétries sont souvent observées, un canal étant plus développé que l'autre (indépendamment de sa position droite ou gauche). Néanmoins, ces conduits peuvent atteindre le diamètre de ceux d'une femelle à un stade équivalent ($90 \times 35 \mu$ dans la région des gonades).

Les canaux paraissent stabilisés, tout au moins jusqu'au stade auquel ils ont été étudiés (précédant de peu la naissance). Des images de nécrose ont seulement été observées chez deux individus.

4. EFFETS SUR LES TUBERCULES GÉNITAUX

Dans la série 1963, les tubercules génitaux sont tout à fait semblables à ceux d'un mâle typique (fig. 19 a). Les tailles (largeur du gland) s'échelonnent, chez les embryons témoins et les embryons traités, entre 0,85 et 1,25 mm; aucune différence n'a été décelée en dehors de variations individuelles, d'ailleurs peu importantes.

Dans la série 1964, les dimensions se répartissent régulièrement entre 0,9 et 0,3 mm; 0,9 mm correspond à une taille un peu inférieure à la normale, chez un mâle, pour un stade aussi tardif que le stade 39; 0,3 mm est une dimension à peine supérieure, voire égale, à celle d'un tel organe chez la femelle. Les tubercules les plus petits sont portés par les individus dont les gonades sont profondément modifiées.

D. DISCUSSION

Dans nos expériences (1), les gonadostimulines utilisées provoquent des phénomènes d'intersexualité, mais seulement chez l'embryon mâle. A cet égard, nos résultats sont comparables à ceux des autres auteurs : DANTCHAKOFF (1939), CRAINICEANU et PREDA (1954), IWASAWA (1958), PREDA et BILTIU-MOSOIGO (1959), STEPHAN (1963). Ils correspondent également aux effets observés par BURGOS et PISANO (1958, 1962) avec une L.H.; mais, de plus, ces auteurs obtiennent une masculinisation complète des têtards femelles par l'emploi d'une F.S.H. Il n'est pas impossible que d'autres préparations gonadotropes puissent agir sur l'embryon femelle de Lézard vivipare. Cette question est encore à l'étude.

IWASAWA a provoqué la féminisation des mâles génétiques avec des extraits hypophysaires renfermant surtout la F.S.H. Au contraire, ces mêmes effets ont été obtenus par tous les autres auteurs au moyen de préparations à « facteur L.H. » exclusif ou prédominant. Par analogie, il est permis de penser que, dans nos expériences, les effets sont dus à l'intervention de la L.H. de l'extrait éprouvé. Une expérimentation récente confirme cette hypothèse (DUFAYRE, 1965 e). Nous avons pu, en effet, administrer à l'embryon de Lézard vivipare une L.H. de mouton hautement purifiée (2), qui a reproduit avec des modalités comparables les modifications observées avec l'extrait hypophysaire total de Cheval.

A quel niveau et par quels mécanismes ces substances opèrent-elles ? Au vu de l'ensemble de ces résultats et compte tenu de nos autres acquisitions expérimentales, nous proposons l'interprétation suivante. Les gonadostimulines commenceraient par supprimer ou inhiber fortement les sécrétions du testicule. Cet effet permettrait aux canaux de Müller de se développer complètement et, à des formations corticales, de persister sur la gonade; au contraire, les tubercules génitaux, dont la forme mâle représente le type neutre, poursuivraient leur développement normal. Cette première phase serait an hormonale et constituerait une castration physiologique obtenue par voie chimique (*action indirecte* de STOLL et

(1) Chez certains Batraciens et Reptiles, on a montré que l'hormone hypophysaire provoquait chez le jeune individu une maturation précoce (RUGH, 1946; DELSOL, 1959; FORBES, 1934, 1937; RISLEY, 1941). Nous n'avons pas observé de maturation typique de la gonade, probablement parce que nous agissons à un stade embryonnaire très précoce.

(2) La L.H. de mouton (préparation C85 D3 T2a) a été préparée par M. JUTISZ et C. COURTE au Laboratoire de Morphologie expérimentale et Endocrinologie du Collège de France, pour le compte du Comité de Coordination pour la Neuroendocrinologie des Vertébrés. Le financement des travaux a été assuré par le C.N.R.S. (R.C.P. n° 59). Nous prions M. JUTISZ, Directeur scientifique au C.N.R.S., qui a très aimablement mis ce produit à notre disposition, de trouver ici l'expression de notre gratitude.

MARAUD ou *effet différentiel* de GALLIEN). Ce résultat, qui est le plus constant, serait obtenu, soit en utilisant de faibles doses, soit en effectuant des administrations tardives. Pour des doses plus importantes et données à des stades plus précoces — conditions qui restent encore à préciser, car ces expériences sont entachées d'incertitudes concernant la qualité et la quantité exactes des produits fournis —, cette inhibition pourrait être suivie de la sécrétion atypique d'un œstrogène. Celle-ci serait responsable, entre autres effets, de la régression des tubercules génitaux observée chez certains individus.

Ces seules expériences ne permettent pas d'attribuer une signification précise à l'effet des hormones hypophysaires. Il importe maintenant de savoir si, normalement, de semblables substances, élaborées au niveau de l'hypophyse, ou en d'autres lieux, interviennent au moment de la différenciation sexuelle. Avant de pousser plus loin la discussion, il faut se demander si l'hypophyse embryonnaire joue un rôle dans la différenciation primaire du sexe. Nous répondrons à cette question dans un prochain chapitre.

Il ne subsiste pas moins un aspect positif de cette expérimentation que nous voulons, dès lors, souligner. En effet, nous avons enregistré des échecs indubitables en tentant d'inverser le sexe au moyen de composés stéroïques. On attribue volontiers à ces échecs une cause d'ordre exclusivement génétique. C'est ainsi que WOLFF écrivait récemment (1964) : « Chez les Mammifères, il (le facteur génétique) s'opposerait, au moins dans certains groupes, à toute transformation intersexuelle des gonades ». Chez le Lézard vivipare, qui s'est comporté, dans les expériences d'administrations d'hormones stéroïdes, à la manière des Rongeurs auxquels fait allusion WOLFF, nous ne pensons pas, du fait des résultats positifs apportés par d'autres traitements, que cette raison puisse être seule invoquée. Il est probable que l'administration d'un stéroïde, telle que nous l'effectuons, est incapable de mimer les processus physiologiques naturels, au moins parce que ceux-ci sont, dans leur détail, beaucoup plus subtils qu'une simple et brutale libération d'hormones. On peut envisager, aussi, l'intervention de substances différentes. Nous y reviendrons dans la discussion générale.

E. RÉSUMÉ DU CHAPITRE III

L'administration d'hormones gonadotropes hypophysaires provoque, chez l'embryon mâle, l'apparition de différents degrés de féminisation. L'effet le plus constant est le développement de canaux de Müller complets et leur maintien. Dans certaines conditions expérimentales (inter-

ventions plus précoces avec des doses plus fortes), on obtient également des modifications importantes de la gonade (modification de la médulla et développement d'un cortex) et une légère inhibition du développement des tubercules génitaux. Le mécanisme et la signification de cet effet des gonadostimulines ne sont pas connus.

IV. — EFFETS DES GONADOSTIMULINES HYPOPHYSAIRES ASSOCIÉES AUX HORMONES STÉROÏDES SUR L'ORGANOGENÈSE DE L'APPAREIL GÉNITAL

Rappelons que des féminisations importantes de l'embryon d'un Lézard ont été obtenues par DANTCHAKOFF (1939) en associant des hormones hypophysaires à de la folliculine. L'inversion sexuelle de la grenouille *Rana catesbiana* n'a été réalisée par PUCKETT (1940) qu'à l'aide d'un protocole expérimental identique. On pouvait donc se demander si des phénomènes semblables se retrouveraient chez le Lézard vivipare.

En dehors de cette recherche, il n'était pas sans intérêt de savoir comment les stéroïdes agiraient sur les structures induites par les gonadostimulines. Ainsi, pourrait être abordé plus complètement le problème du rôle morphogène des hormones stéroïdes, sur lequel une précédente expérimentation (chapitre II) ne nous a apporté que des renseignements succincts.

Nos premiers résultats ont été consignés dans une note préliminaire (DUFAYRE, 1965 c).

A. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Les hormones stéroïdes, benzoate d'œstradiol (Benzogynestryl « 5 » Roussel) et propionate de testostérone (Perandrone « 25 » Ciba), sont injectées aux doses de 5 à 20 μ g environ pour l'hormone mâle. Les gonadostimulines (Gonadormone Byla) sont déposées sur l'allantoïde et les doses administrées correspondent à celles qui ont été fournies aux embryons de la deuxième série d'expérimentation sur les gonadostimulines (série 1964) : dose moyenne de 2 à 3 U.S. Les deux interventions sont effectuées au même moment ou à des époques différentes; des indications plus précises sont données pour chacune des séries expérimentales.

B. RELATION DES RÉSULTATS

1. ASSOCIATION DES GONADOSTIMULINES A UNE HORMONE ANDROGÈNE

Deux lots comprenant 9 embryons constituent cette série expérimentale. La testostérone a été injectée 24 heures après l'administration de gonadostimulines, effectuée au stade 32. Des embryons, provenant des mêmes lots, ayant reçu seulement des hormones hypophysaires, ont servi de témoins (embryons de la série 1964).

A la dissection, les individus, mâles et femelles, se présentent, au point de vue génital, comme les animaux traités avec les seules gonadostimulines. Néanmoins, quelques modifications des mésonéphros, des canaux de Wolff et des tubercules génitaux, analogues à celles habituellement rencontrées avec les stéroïdes, sont reconnues.

Aucune transformation n'affecte les ovaires. Les testicules sont recouverts, surtout ventralement, par un cortex semblable à celui des mâles traités à ce stade par les gonadostimulines, alors que la médulla est peut-être plus typique que dans ce dernier cas, mais le nombre d'observations est trop faible pour en décider avec certitude. Ces modifications, minimes, ne portent pas sur le cortex induit par l'hormone hypophysaire.

Tous les embryons, mâles et femelles, présentent des canaux de Müller complètement édifiés. Leur diamètre, mesuré au niveau des gonades, est légèrement inférieur, chez les mâles, à celui du sexe opposé. Quelques plages de nécrose, analogues à celles décrites chez l'embryon d'Oiseau par LUTZ-OSTERTAG (1954), ont été trouvées chez deux femelles et un mâle, près du cloaque et au voisinage des gonades. Typiques mais en faible nombre, elles sont voisines de figures de mitose. Il doit s'agir d'une réaction très localisée affectant un nombre restreint de cellules et qui n'entraîne pas l'effondrement des structures müllériennes (1).

Les tubercules génitaux, toujours présents, sont en général petits et unilobés, ressemblant à ceux d'une femelle normale à un stade correspondant. Nous savons que l'hormone androgène administrée avant le stade 33 a un effet inhibiteur; mais celui-ci est moins prononcé qu'avec l'hormone femelle.

En conclusion, aux doses éprouvées et aux stades envisagés, l'hormone mâle ne contrarie pas la féminisation provoquée par les gonadostimulines. Les structures féminines induites chez le mâle génétique ne sont pas plus modelables par la testostérone, que ne le sont les tissus des gonades et des canaux de Müller des femelles génétiques.

(1) Remarquons que ces figures n'avaient pas été observées avec les seuls androgènes et qu'elles n'existent pas chez l'embryon mâle normal.

2. ASSOCIATION DES GONADOSTIMULINES A UNE HORMONE ŒSTROGÈNE

a) *Administration précoce de l'hormone œstrogène.*

Dans cette série, 6 individus ont été mis en expérience. Pour chacun d'eux, l'hormone femelle est injectée à un stade précoce (stades 28 et 29), alors que l'hormone hypophysaire n'est administrée qu'un peu avant la différenciation sexuelle (stade 31-32). Des embryons provenant de mêmes lots, ayant reçu seulement de l'œstradiol, servent de témoins.

Les testicules ont fait l'objet d'une étude microscopique attentive. A la structure mâle, parfaitement reconnaissable et typique, se superpose un mince cortex, continu, mais constitué par des cellules assez plates, sauf en certains points très localisés où elles sont plus élevées. Les gonocytes y sont rares.

Aucun individu, mâle ou femelle, ne présente de tubercules génitaux. Le bord de l'orifice cloacal est parfaitement lisse et dépourvu de toute formation proéminente.

Les canaux de Müller ont un développement très variable. L'effet toxique, dû à l'administration trop précoce de l'hormone œstrogène, s'est manifesté sur cette ébauche et n'a été que partiellement levé par l'emploi de l'hormone hypophysaire.

En conclusion, la féminisation dans cette série n'est pas nette. Les canaux de Müller ont subi une inhibition, déjà rencontrée avec les seules hormones œstrogènes, phénomène qui entre en compétition avec l'effet morphogène des hormones hypophysaires. La gonade est faiblement modifiée. La persistance corticale, minime, que l'on observe, plaide plus en faveur d'un retard dans le développement du testicule que d'une orientation vers le sexe opposé.

b) *Administration simultanée de l'hormone œstrogène et des gonadostimulines.*

Cette série expérimentale a été effectuée avec 38 embryons comprenant 23 mâles et 15 femelles. Les deux substances ont été données à différents stades compris entre le stade 29 et le stade 33, soit le même jour, soit à 24 heures d'intervalle, l'œstrogène étant alors injecté en second. Dans chacun des lots d'où proviennent ces animaux, un certain nombre d'embryons ont reçu seulement des gonadostimulines. L'effet des hormones hypophysaires, sur ces derniers, a été décrit dans le chapitre III (série 1964).

Gonades. — Les effets, sur les testicules, se superposent exactement à ceux qui ont été observés avec les seules gonadostimulines. Mais, en suivant ce protocole expérimental, les hormones œstrogènes accentuent les effets des hormones hypophysaires sur la gonade, et notamment sur le cortex qui est stimulé (fig. 23). On peut comparer, à titre d'exemple, les figures 20 et 23 provenant d'embryons du même lot.

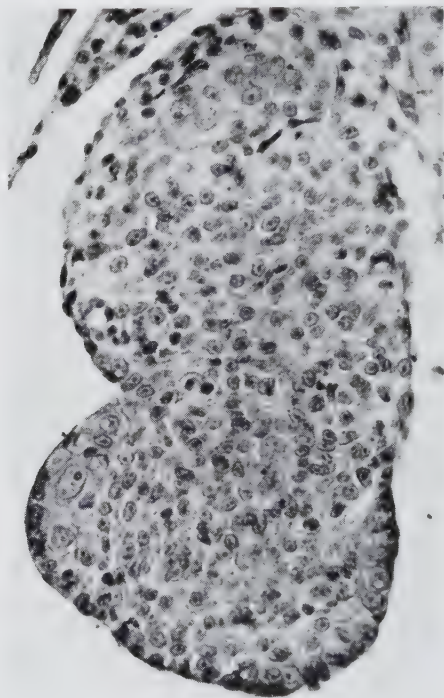


FIG. 23.

Coupe transversale dans une glande génitale d'un individu traité simultanément au stade 30 par les gonadostimulines et l'hormone œstrogène. Noter la séparation entre les parties mâles et femelles, soulignée par un véritable étranglement ($\times 330$).

Canaux de Müller. — La croissance antéro-postérieure de ces formations n'a pas été affectée par l'introduction de l'hormone stéroïde. Mais, pour des traitements effectués au stade 33, on relève, parmi les 10 mâles examinés, 4 cas d'agénésie et un cas de développement imparfait. L'évolution des canaux de Müller de ces derniers individus est, probablement, en partie déterminée au moment de l'intervention.

Des mesures du diamètre du conduit montrent que l'hormone œstrogène, dans les conditions présentes, ne stimule pas les structures müllériennes, tant chez le mâle que chez la femelle.

Tubercules génitaux. — Une agénésie totale de ces formations affecte les individus traités jusqu'au stade 32-33. Mais tous les embryons, mâles et femelles, traités au stade 33, présentent de petits tubercules génitaux unilobés de taille assez semblable à ceux d'une femelle.

En conclusion, par rapport aux expériences précédentes, nous remarquons qu'en retardant l'administration de l'hormone œstrogène, l'effet féminisant augmente. Sur les gonades, l'action de l'œstrogène s'ajoute à celle des gonadostimulines. Mais il existe une dissociation des effets obtenus sur les canaux de Müller et sur les tubercules génitaux. En effet, seuls les traitements tardifs permettent de reproduire l'évolution normale des tubercules génitaux, telle qu'elle s'effectue chez la femelle, mais ils sont incapables d'assurer un développement normal des conduits müllériens. On peut alors se demander s'il ne convient pas de dissocier les deux administrations. Ainsi, il serait possible de retarder l'injection de l'hormone œstrogène, pour s'éloigner de la période d'incompétence pendant laquelle les canaux de Müller et les tubercules génitaux répondent par de fortes inhibitions; mais on pourrait administrer les gonadostimulines assez tôt pour obtenir le développement des canaux de Müller et la persistance d'un cortex sur la gonade. Cette expérimentation est exposée dans le paragraphe suivant.

*c) Administration tardive
de l'hormone œstrogène.*

Suivant le protocole défini plus haut, 6 lots comprenant 46 embryons ont été mis en expérience. Les gonadostimulines sont administrées entre les stades 30 et 32, alors que l'œstradiol est injecté à partir du stade 34 et jusqu'au stade 36. Dans chaque lot, quelques embryons qui ont reçu des gonadostimulines ne sont pas traités par l'œstradiol, et servent d'éléments de comparaison.

Dès la dissection, il apparaît que les animaux qui ont reçu les deux hormones ont un phénotype sexuel très voisin l'un de l'autre et semblable à celui d'une femelle (fig. 24), avec cependant des modalités différentes suivant le stade exact de l'administration de l'œstradiol.

En général, la forme de la gonade permet de reconnaître le sexe géné-



FIG. 24. — Individu mâle ayant reçu des gonadostimulines au stade 32 et de l'œstradiol au stade 34-35. Le phénotype sexuel est celui d'une femelle.

tique, bien que chez certains intersexués la glande génitale tende à prendre la forme d'un ovaire. Ce seul critère morphologique est donc insuffisant, et nous avons soigneusement étudié l'anatomie microscopique de chacune des gonades. Il semble qu'à l'exception de quelques rares cas « douteux », nous ayons pu ainsi identifier 6 mâles et 5 femelles chez les embryons traités par les seules gonadostimulines, 20 intersexués (très probablement tous mâles génétiques) et 15 femelles chez ceux qui ont reçu également de l'œstradiol.

Glandes génitales. — Les gonades présentent une « régionalisation » antéro-postérieure, analogue à celle que nous avons décrite plus haut

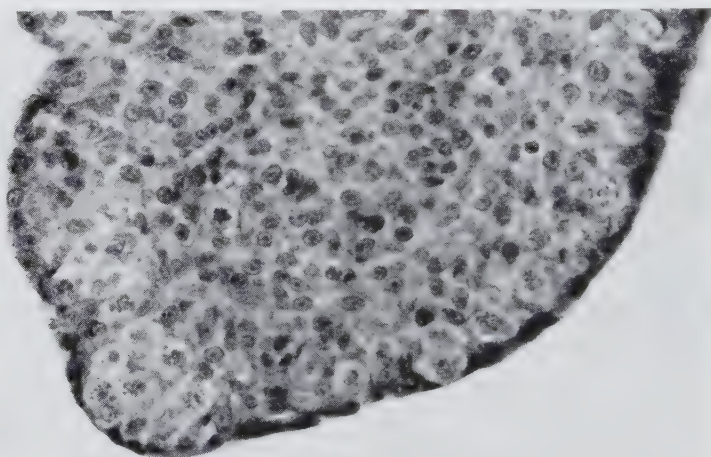


FIG. 25. — Coupe transversale dans la gonade intersexuée d'un individu traité successivement par des gonadostimulines et de l'œstradiol. Détail de la région corticale ($\times 400$).

(voir fig. 21). D'une manière générale, la glande débute antérieurement par des territoires mâles : la médulla est inorganisée mais contient de nombreux gonocytes; elle est recouverte par une assise de cellules superficielles très aplaties. Puis on passe progressivement à une glande femelle. Un petit cortex apparaît à la surface ventrale et la médulla de type mâle est remplacée par un tissu femelle. Vers la région postérieure, le cortex forme deux bandelettes latérales comme dans un ovaire, mais d'une épaisseur moindre. Dans 8 cas, les gonocytes corticaux sont entrés en prophase de méiose (stade leptotène généralement) (fig. 25).

Le volume cortical est plus important chez les individus qui ont subi le traitement complet, que chez ceux, de même origine, traités par les

seules gonadostimulines. Comme dans les précédentes expériences, l'injection d'hormone œstrogène permet de stimuler le cortex dont le développement, ou la persistance, est induit par l'administration des gonadostimulines.

Caractères sexuels somatiques. — Les canaux de Müller et les tubercules génitaux se présentent comme chez une femelle typique (fig. 24).

TABLEAU VII a

ADMINISTRATION DE GONADOSTIMULINES ET D'ŒSTROGÈNES.

MESURES DU DIAMÈTRE DES CANAUX DE MÜLLER
ET DES TAILLES DES TUBERCULES GÉNITAUX

Lot	Stade injection œstrogènes	Stade à l'autopsie	Sexe génétique présumé	Diamètre des canaux de Müller	Taille des tubercules génitaux
F 8.	34	39	Mâle.	60 × 50 - 55 × 50	0,80-0,15
		»	»	45 × 35 - 35	0,15
		»	Femelle.	85 × 80 - 60	0,20
		»	»	60 × 50 - 55	0,15
		»	»	45 × 35 - 40 × 35	0,20
F 36.	34-35	39	Mâle.	70 × 60 - 65 × 60	0,30-0,25
		»	»	65 × 60 - 60	0,25
		»	»	50 × 40 - 45 × 35	0,25
		»	»	50 × 45 - 40	0,20
		»	»	45 - 40 × 30	0,20
		»	Femelle.	45 × 35 - 40 × 30	0,25-0,20
				65 × 50 - 60 × 50	0,20
F 21.	35	39	Mâle.	85 × 55 - 70 × 65	0,25
		»	»	70 × 50 - 60 × 50	0,25
		»	»	55 × 40 - 50 × 40	0,40
		»	Femelle.	65 × 40 - 60 × 55	0,20
		»	»	65 × 40 - 55 × 45	0,20
		»	»	50 × 30 - 40 × 30	0,25-0,20
F 39.	35-36	39	Mâle.	70 × 60 - 70 × 55	0,30-0,25
		»	»	65 × 55 - 60 × 45	0,25
		39-40	»	60 × 35 - 50 × 35	0,30
		»	Femelle.	80 × 70 - 75 × 65	0,10
F 32.	36	40	Mâle.	95 × 80 - 75 × 70	0,60-0,55
		»	»	90 × 80 - 80 × 70	0,70-0,60
		39	»	70 × 65 - 70 × 60	0,40-0,35

Les résultats sont groupés en fonction du stade de l'administration de l'œstrogène. On donne dans chaque cas individuel : le stade exact à la fixation, le sexe génétique présumé, le diamètre en microns des canaux de Müller mesuré au niveau des gonades et la largeur des tubercules génitaux à leur extrémité, exprimée en mm. Lorsque le canal de Müller n'est pas circulaire, on donne les mesures extrêmes, réunies par le signe ×.

Des variations intéressantes sont, néanmoins, enregistrées. Elles sont fonction du stade de l'administration de l'hormone œstrogène, et leur étude nous fournit des renseignements complémentaires sur la compétence de ces effecteurs à l'égard des stérols. Des mesures des canaux de Müller et des tubercules génitaux sont données dans différents cas (tableau VII a) avec, comme éléments de référence, quelques mesures effectuées chez les individus traités par les seules gonadostimulines (tableau VII b).

TABLEAU VII b
EMBRYONS TRAITÉS PAR LES GONADOSTIMULINES SEULES

Lot	Stade à l'autopsie	Sexe génétique présumé	Diamètre des canaux de Müller	Taille des tubercules génitaux
F 8.	39	Mâle.	60 × 30 - 50 × 30	1,00
	»	Femelle.		0,20
	»	»		0,20-0,15
F 21.	39	Mâle.	35 × 25 - 30 50 × 30 - 40 × 30	0,70
	»	Femelle.		0,35-0,30
F 39.	39			0,65
F 32.	40	Mâle.	85 × 40 - 60 × 50	0,95
	»	»	70 × 35 - 65 × 35	0,85
	39	Femelle.	40 × 30 - 35 × 30	0,75
	»	»		0,30
	»	»		0,25

Le diamètre des canaux de Müller des intersexués peut atteindre, dans certains cas, celui des femelles traitées dans les mêmes conditions. Les valeurs les plus faibles sont rencontrées pour les deux premiers lots traités aux stades 34 et 34-35, ce qui indique que, comme dans les précédentes expériences, l'hormone œstrogène peut encore manifester un léger effet inhibiteur. Au contraire, cet effet disparaît avec des traitements plus tardifs pour lesquels les canaux de Müller sont bien stimulés par rapport à ceux des témoins traités par les gonadostimulines seules (voir tableau VII b). Chez des embryons ayant reçu l'hormone femelle au stade 36, la stimulation des canaux de Müller est importante. Il existe, chez les mâles féminisés, quelques cas de prolifération atypique de l'épithélium müllérien. Ils sont semblables à ceux qui ont été décrits chez les femelles traitées par les hormones œstrogènes.

Les effets observés sur les tubercules génitaux sont intéressants et

confirment nos précédentes conclusions sur la compétence de cette ébauche. A partir du stade 33, les hormones œstrogènes n'ont plus de propriétés agénésiantes, mais frénatrices. Pour des injections effectuées aux stades 34 et 34-35 (fig. 24), les tubercules ont chez tous les individus la taille et la forme caractéristiques de ceux d'une femelle normale. Ils sont, en particulier, unilobés. A partir du stade 35, l'hormone femelle n'empêche plus la formation d'un petit gland bilobé, mais la taille reste celle d'un organe femelle normal. Pour des injections effectuées au stade 36, il se forme chez les intersexués de petits pénis de taille intermédiaire entre celle d'organes mâles et femelles typiques.

En conclusion, ce dernier protocole expérimental nous a permis de réaliser une inversion presque complète du phénotype sexuel de l'embryon mâle de Lézard vivipare. Les effets féminisants sont obtenus, en harmonie les uns avec les autres, sur chacun des réacteurs. Aussi, pouvons-nous supposer que nous nous rapprochons, par cette expérimentation, des conditions naturelles de la différenciation du sexe, au cours de la vie embryonnaire.

C. DISCUSSION

Rappelons que les expériences d'administration d'hormones stéroïdes (chapitre II) nous ont permis de montrer que la réceptivité des effecteurs sexuels, en particulier celle des tubercules génitaux, se modifiait au cours de l'embryogenèse. Nous retrouvons ici ce phénomène et confirmons que le stade 33 représente un *stade critique* pour la différenciation des organes copulateurs. Il en est de même pour les canaux de Müller, lorsqu'ils sont développés chez le mâle : d'abord, fortement inhibés à la suite d'administrations précoces d'œstradiol, ils le sont ensuite plus faiblement, passent par une période d'indifférence, et enfin peuvent être stimulés, pour des injections tardives. Ils réagissent comme leurs homologues chez une femelle génétique. De plus, les canaux de Müller, tant chez le mâle que chez la femelle, sont incompetents à l'égard des stérols à propriétés androgènes. Enfin, cette expérimentation nous apporte des données nouvelles sur la compétence des territoires de la gonade. Si les injections d'œstradiol sont incapables de faire développer un cortex sur le testicule embryonnaire, elles provoquent la stimulation du territoire cortical qui s'est constitué après l'administration des gonadostimulines. Le cortex de génotype mâle est donc compétent à l'égard d'un stérol à propriétés œstrogènes. Mais nous confirmons que l'injection précoce de ce composé exerce un effet défavorable au développement

cortical : cette compétence doit être acquise tardivement. L'injection de testostérone, aux doses pratiquées, ne provoque pas l'inhibition de ce cortex.

Ainsi apparaît avec plus de certitude ce que nous avançons dans les conclusions du chapitre précédent : la constitution génétique de l'effecteur n'intervient pas dans la *nature* de sa réponse à une sollicitation hormonale. Mais le facteur génétique peut intervenir dans l'intensité de cette réponse, ainsi que l'a montré, par exemple, HAMILTON (1961) dans son étude sur les canaux de Müller de l'embryon de Poulet. Il doit intervenir aussi pour déterminer le moment auquel l'effecteur est compétent.

L'étude de la réceptivité des ébauches génitales à l'égard des stéroïdes permet de faire des suppositions sur l'intervention d'hormones de ce type au cours de la différenciation sexuelle. N'est-il pas suggestif que ce soient des administrations tardives de stéroïdes qui permettent d'obtenir de façon harmonieuse l'inversion la plus complète du phénotype sexuel ? Dans l'éventualité de leur intervention, celle-ci pourrait être tardive et s'effectuerait à partir du stade 33 ou 34 environ. Ces hormones assureraient alors dans le sexe femelle, d'une part l'évolution des tubercules génitaux, comme nous l'avons déjà énoncé, et, d'autre part, l'achèvement de l'édification des structures, en particulier le développement d'un cortex ovarien typique. Enfin, il paraît peu probable que des substances du type de la testostérone interviennent chez le mâle aux stades envisagés.

D. RÉSUMÉ DU CHAPITRE IV

Des hormones stéroïdes, androgènes et œstrogènes, ont été administrées en association avec des gonadostimulines.

L'injection d'hormones androgènes ne contrarie pas l'effet féminisant des hormones hypophysaires.

Les hormones œstrogènes exercent un effet différent suivant le stade auquel elles sont administrées. Injectées précocement elles provoquent des inhibitions. Au contraire, en retardant leur administration, on obtient, d'une part, une stimulation franche des structures femelles qui ont été induites par les gonadostimulines, et, d'autre part, la régression des tubercules génitaux. Ce protocole expérimental permet d'obtenir une inversion presque complète du phénotype sexuel de l'embryon mâle.

V. — EFFETS DE L'HYPOPHYSECTOMIE SUR LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE

A. HISTORIQUE

Le rôle éventuel que pourrait jouer l'hypophyse au moment où les glandes endocrines embryonnaires commencent à sécréter leurs hormones a depuis longtemps préoccupé les chercheurs. Ils ont utilisé trois méthodes d'investigation : privation de l'organe, administration d'hormones, étude histophysiologique. Pour les Oiseaux et les Mammifères, une revue des différents travaux se rapportant à cette question a été effectuée par BENOIT (1962). Elle fait suite à la mise au point de ROMANOFF (1960) concernant l'embryon d'Oiseau. Un fait général se dégage de toutes ces recherches : l'hypophyse embryonnaire n'agit pas sur les premiers stades de la différenciation sexuelle des gonades. Même dans le cas du Lapin, chez lequel JOST (1951) a obtenu par suppression de l'hypophyse embryonnaire des anomalies caractéristiques de la partie terminale du tractus génital, celles-ci résultent seulement d'un affaiblissement de la fonction testiculaire; le caractère mâle de la glande elle-même ne peut être mis en doute.

RAYNAUD est le premier à avoir effectué la suppression de l'hypophyse chez l'embryon de Reptile (*Anguis fragilis* L.), par irradiation (1960 *b*), puis par décapitation (1962 *d* et *e*). La différenciation sexuelle des glandes génitales est normale dans les deux cas. Mais chez les embryons mâles irradiés, RAYNAUD observe une persistance anormale des canaux de Müller. RAYNAUD et RAYNAUD (1961) ont également étudié par les méthodes histochimiques (réaction à l'A.P.S.) l'activité sécrétoire de l'hypophyse embryonnaire de l'Orvet.

Des données sur la cytologie de l'hypophyse embryonnaire du Léopard vivipare ont été apportées par GRIGNON et GRIGNON (1961). D'après ces auteurs, la sécrétion de la T.S.H. débiterait en premier. Il paraît difficile de préciser à quel moment pourrait commencer l'élaboration des hormones gonadotropes; ce serait peut-être vers la fin du développement embryonnaire.

Nous pouvons conclure, à la suite de ROMANOFF (1960), que les méthodes histologiques ne sont pas sûres pour détecter, chez l'embryon, un éventuel fonctionnement de l'hypophyse et, avec FUGO (1940), que l'hypophysectomie est, au contraire, un bon moyen d'approche. Nous avons utilisé cette dernière méthode.

B. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Nous avons pratiqué l'hypophysectomie par décapitation, suivant la technique précédemment décrite (voir *Matériel et méthodes*). 40 embryons ont été décapités et 25 témoins non traumatisés ont été mis en culture en même temps que les opérés. Les embryons sont autopsiés au stade le plus âgé possible, et seuls sont pris en considération les individus qui dépassent le stade 35. Une étude préliminaire de l'état de l'ébauche au moment de l'opération a été effectuée : l'hypophyse n'est pas édiflée; seule, une légère invagination de l'épithélium du stomodéum indique le début de la formation de la poche de Rathke. De même, à la fin de l'expérience, la région antérieure des embryons décapités a été soumise à un contrôle histologique : l'absence d'hypophyse est totale dans tous les cas. L'intervention permet donc d'éliminer complètement cette glande endocrine avant qu'elle ne fonctionne.

C. RELATION DES RÉSULTATS

1. EFFETS GÉNÉRAUX

La mortalité est élevée puisque 14 individus seulement ont pu être fixés à un stade relativement âgé, alors que 40 embryons avaient été opérés. Elle n'affecte pas de préférence pour l'un ou l'autre sexe, car la proportion sexuelle est normale (7 mâles et 7 femelles); elle est plus faible chez les témoins (8 morts pour 25 œufs mis en culture). Les embryons supportent bien le traumatisme dû à l'opération malgré des hémorragies parfois importantes et, après 2 ou 3 jours, la circulation sanguine est normale dans presque tous les cas. Au contraire, certains embryons meurent à des stades ultérieurs.

Les décapités prennent un léger retard par rapport aux témoins, et sont souvent un peu plus jeunes que ceux-ci au moment de l'autopsie.

Les embryons, quoique de petite taille, sont bien proportionnés et normalement différenciés. Seule la région céphalique est très aberrante (fig. 26). La mâchoire inférieure et la langue sont complètement formées, mais la mâchoire supérieure, absente, de même que les organes olfactifs, les yeux et la région pinéale. Dans la masse postérieure qui représente le reste du cerveau, on reconnaît les organes auditifs. L'étude histologique révèle la présence d'une partie du mésencéphale de même que celle du cerveau postérieur.

Nous n'avons pas observé d'anomalies dans la pigmentation, mais les embryons sont fixés un peu trop tôt pour que l'on puisse en juger avec certitude.

2. EFFETS SUR L'APPAREIL GÉNITAL

L'étude morphologique ne laisse aucun doute sur le sexe des embryons décapités. Les mâles et les femelles se reconnaissent bien à leur appareil génital typique. Les gonades sont de petite taille, sans que ce fait paraisse très significatif.

FIG. 26.

Individu femelle, décapité au stade 25 et fixé au stade 38. Remarquer, dans la partie antérieure, l'organe auditif visible sur le côté droit et la mâchoire inférieure normalement développée.



Chez les femelles (fig. 26), l'ovaire a une forme caractéristique et les canaux de Müller sont complètement développés. Les tubercules génitaux, de taille réduite, sont bilobés dans 4 cas, unilobés dans 3 cas. Une proportion voisine est observée chez les témoins (bilobés dans 6 cas, pour 7 cas unilobés). Cela tient probablement à une mise en culture assez précoce et non à un effet direct de l'intervention, comme le prouvent les témoins.

Les embryons mâles présentent des résidus müllériens peu importants.

Les tubercules génitaux sont normalement développés pour ce stade.

En dépit des renseignements déjà significatifs apportés par la morphologie, tous les individus ont été soumis à une étude microscopique. Aucune anomalie n'a été observée au niveau des testicules. Les ovaires sont semblables à ceux des témoins, à condition toutefois que les individus comparés soient au même stade. Peu de cellules germinales entrent en méiose, mais il en est de même chez les témoins. L'observation microscopique confirme donc les apports de la morphologie : la différenciation sexuelle s'effectue normalement jusqu'à un stade avancé du développement embryonnaire (stade 38) chez les animaux privés d'hypophyse.

D. DISCUSSION

L'hypophyse embryonnaire du Lézard vivipare ne fonctionne pas au moment de la différenciation sexuelle de la gonade. Ceci est en accord avec les résultats obtenus chez toutes les autres espèces explorées à ce jour. L'hypophyse ne paraît même pas contrôler les gonades embryonnaires avant un stade probablement avancé du développement, car les voies génitales et l'appareil génital externe ne sont pas affectés par l'intervention.

A cet égard, nos résultats diffèrent de ceux obtenus par Jost (1951) chez l'embryon de Lapin et par KINYON et WATERSON (1956) chez l'embryon de Canard. Ces auteurs observent des modifications de la partie terminale du tractus génital, en particulier de l'appareil génital externe qui se développe suivant le type neutre, par suite d'un affaiblissement de la fonction endocrine des gonades.

En conclusion, ce n'est donc pas dans le fonctionnement éventuel de l'hypophyse, chez l'un ou l'autre sexe, qu'il faut chercher une explication à l'effet morphogène si puissant qu'exercent, dans nos expériences, des gonadostimulines d'origine exogène. D'autres hypothèses doivent être avancées.

E. RÉSUMÉ DU CHAPITRE V

La décapitation de l'embryon de Lézard vivipare effectuée à un stade précoce permet d'obtenir la suppression totale de l'ébauche hypophysaire. La différenciation sexuelle s'effectue normalement en l'absence de l'hypophyse. Il est peu probable que, dans les conditions naturelles, des gonadostimulines hypophysaires agissent sur la gonade, avant la fin du développement embryonnaire.

CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE

Comme chez les autres Vertébrés, la différenciation du sexe se déroule, chez le Lézard vivipare, en deux étapes fondamentales : orientation sexuelle de la gonade, puis orientation correspondante des autres effecteurs sexuels par le jeu des sécrétions gonadiques. Les expériences de greffes et de castration ont permis de montrer que la régression des tubercules génitaux, chez l'embryon femelle, est dirigée par l'ovaire, alors que chez l'embryon mâle le testicule est probablement responsable de l'agénésie partielle et de la régression des canaux de Müller. Ainsi, ayant mis en évidence chez un Reptile les principaux mécanismes décrits dans d'autres classes de Vertébrés, nous pouvons désormais nous interroger sur la nature des sécrétions impliquées dans ces phénomènes.

En ce qui concerne la nature chimique des inducteurs sexuels, on oppose habituellement les tenants de la « théorie des stéroïdes » aux défenseurs de la « théorie des protéines », stéroïdes ou protéines étant, pour les uns ou pour les autres, les agents de la différenciation du sexe. Cette séparation est-elle aussi fondamentale? Personne ne conteste l'effet morphogène puissant des stéroïdes. Mais n'est-il pas remarquable de constater que GALLIEN, par exemple, qui a obtenu avec des hormones stéroïdes l'inversion complète, durable sinon définitive, et fonctionnelle du sexe chez les Batraciens n'a pas acquis, pour cela, la conviction qu'une similitude d'effets implique une similitude de causes? Et il écrit, en 1959 : « Il ne paraît pas possible de décider, dans l'état actuel de nos connaissances, de la nature précise des stimuli inducteurs de la différenciation sexuelle des gonades, mais le rôle de substances protidiques doit maintenant être pris en considération et posé sur le plan expérimental » (p. 97). WITSCHI, promoteur de la « théorie des protéines », n'a-t-il pas une position nuancée lorsqu'il dit en 1950 : « De l'analyse de l'ensemble de ces faits, nous avons conclu que les substances inhibitrices doivent être d'une considérable spécificité taxonomique, et, par conséquent, qu'elles ne sont pas des stéroïdes. Les effets remarquables de ces derniers sur les glandes sexuelles indiquent, peut-être, quelque degré de parenté; il se peut que des stéroïdes fassent partie de molécule plus grande » (p. 235)? A l'opposé, WOLFF, défenseur de la « théorie des stéroïdes », dans la discussion de l'article de WITSCHI cité plus haut, envisage, au moins à titre spéculatif, une hypothèse semblable : « Pensez-vous que ces substances inhibitrices, dont les effets sont les mêmes que les hormones cristallisées, puissent être identifiées à celles-ci ou au moins être des combinaisons de ces hormones avec des composés protidiques? Ainsi l'on pourrait concilier à la fois les effets puissants des hormones cristal-

lisées, que j'ai soulignés, et les différences taxonomiques sur lesquelles vous avez appelé l'attention » (p. 244).

L'examen global de nos résultats montre que l'emploi d'androgènes et d'œstrogènes, hormones stéroïques, ne nous a pas permis de reproduire les différents phénomènes qui assurent la différenciation du sexe, à l'exception des tubercules génitaux, alors que l'administration de gonadostimulines hypophysaires, hormones protéiques, provoque des féminisations plus ou moins accentuées de l'embryon mâle. Cette observation doit être commentée.

Rappelons que les stéroïdes sont toxiques à l'égard des différents territoires sexuels, approximativement jusqu'au stade 33. Au-delà de ce stade et dans certaines conditions (par exemple, en faisant agir préalablement une gonadostimuline), l'œstradiol peut exercer un effet morphogène, tant sur le cortex des gonades que sur les canaux de Müller ou sur les tubercules génitaux. Cette modification de la compétence des territoires sexuels au cours de l'embryogenèse donne à penser que les stéroïdes n'agissent pas *avant le stade 33*. Mais ils pourraient être libérés après ce stade et, dès lors, dirigeraient l'évolution de l'appareil génital externe, comme le montre l'ensemble de l'expérimentation. Or, *au stade 33*, la destinée de la gonade tout au moins, et probablement aussi celle des canaux de Müller, sont fixées. Serait-ce par l'action d'un inducteur de nature différente ? Deux éventualités sont alors à envisager.

Avant le stade 33, des stéroïdes pourraient être sécrétés, mais à des doses infimes, et les réacteurs, particulièrement réceptifs, seraient altérés de manière irréversible par toute dose extra-physiologique. BURNS (1950, 1959), en particulier, a montré que l'inversion du sexe pouvait être réalisée chez l'Opossum par l'administration quotidienne d'hormone œstrogène à des doses infinitésimales, de l'ordre de 0,1 µg. Les résultats obtenus avec les gonadostimulines pourraient être interprétés dans ce sens. Il est bien connu que la L.H. commande normalement la production des hormones stéroïdes dans la glande interstitielle de l'adulte. Son administration à l'embryon pourrait stimuler le début d'une telle synthèse, à des doses physiologiques, mais d'une manière aberrante ou paradoxale (production d'une hormone gynogène chez un embryon génétiquement mâle).

Cette hypothèse nous paraît incompatible avec deux ordres de faits. Dans les expériences d'injections d'hormones stéroïdes, les doses reçues ne sont pas rigoureusement identiques d'un embryon à l'autre, soit à cause de l'imperfection des instruments utilisés (eu égard aux faibles doses qui sont administrées), soit parce qu'une certaine quantité d'hormone peut être expulsée accidentellement à la suite de l'injection. Aussi, pourrait-on s'attendre à observer des réponses nuancées, qui varieraient suivant la quantité exacte d'hormone parvenue à l'embryon. Or, elles sont plutôt de la nature d'une réponse « *tout ou rien* ». En effet, ou

bien on observe un effet nul, ou bien un effet toxique. Ceci tendrait à prouver que les récepteurs sont bien incompetents à l'égard des stérols, quelle que soit la dose administrée. Plus suggestifs nous paraissent être les résultats obtenus dans les expériences de greffes. Si nous admettons qu'une substance hormonale circule chez les parabiontes et oriente le sexe des tubercules génitaux par l'intervention d'un œstrogène de nature stéroïde, nous devons reconnaître que cette hormone naturelle s'est révélée incapable de provoquer le développement d'un cortex sur le testicule embryonnaire.

L'autre hypothèse (les substances agissant avant le stade 33 ne seraient pas des stérols) mérite d'être discutée. BURGOS et PISANO (1962) considèrent que la F.S.H. et la L.H. hypophysaires sont les véritables inducteurs sexuels, mais ne précisent pas si leur origine serait à rechercher dans l'hypophyse elle-même. Nous pouvons, à la suite des expériences d'hypophysectomie, exclure catégoriquement l'éventualité de l'intervention de cette glande dans la différenciation primaire du sexe chez le Lézard vivipare. En 1939, DANTCHAKOFF a émis une opinion intéressante, selon laquelle des substances voisines des hormones hypophysaires pourraient être sécrétées par la gonade embryonnaire. Chez le Lézard vivipare, au moins à titre d'hypothèse de travail, nous pouvons envisager que des substances semblables soient précocement synthétisées par la gonade. Dans cette perspective, nous proposons le schéma qui suit. Les gènes impliqués dans le phénomène de la différenciation du sexe induiraient, dans la glande génitale indifférenciée, des synthèses protéiques successives, au terme desquelles apparaîtrait une glycoprotéine complexe, voisine des hormones gonadotropes de l'adulte. Cette glycoprotéine agirait au moins sur la gonade, dont elle déterminerait l'orientation, et sur sa lignée interstitielle qu'elle inciterait à sécréter des hormones stéroïdes, tout comme elle le fait chez l'adulte. Ces dernières achèveraient alors l'édification des structures et, en particulier, dirigeraient l'évolution des tubercules génitaux. Notre hypothèse apparaît ainsi comme un compromis entre la « théorie des stérols » et la « théorie des protéines ». Il resterait alors à déterminer avec précision sous quelle forme, à quel moment et sur quel territoire intervient chacune des substances. Il n'est pas non plus impossible, comme l'a laissé entendre WITSCHI, que les hormones stéroïdes soient, à l'origine, liées à ces molécules protéiques qui les inactiveraient temporairement. Nos connaissances sur les affinités chimiques et le mode de transport des hormones stéroïdes corroborent cette conception. Pour le moment, nous ne pouvons émettre de telles opinions qu'à titre hypothétique.

Si notre schéma se révélait exact, il expliquerait l'évolution normale de l'embryon femelle, mais serait en désaccord avec nos connaissances actuelles de l'organogenèse sexuelle du mâle. On pourrait à la rigueur admettre que celle-ci serait an hormonale, mais cette hypothèse n'expli-

querait pas l'agénésie et la régression des canaux de Müller chez ce sexe. Rappelons que l'expérimentation ne nous a pas apporté de données sur la nature des sécrétions testiculaires vraisemblablement impliquées dans ces phénomènes. D'autres recherches sont nécessaires.

Il ne faut pas non plus écarter l'éventualité d'un effet seulement pathologique des gonadostimulines dans ces expériences. Nous avons montré que leur action était progressive et s'exerçait d'abord par une sorte de castration physiologique. Celle-ci pourrait résulter d'une altération ou d'un dérèglement des cellules interstitielles. Dans cet ordre d'idées, on connaît différents agents chimiques ou physiques qui exercent une action sur les phénomènes de la différenciation du sexe, mais sont apparemment sans rapport avec les mécanismes naturels de l'organogenèse. Citons, à titre d'exemple, l'effet bien connu de la température sur la différenciation sexuelle des Batraciens et des Oiseaux.

Quoi qu'il en soit, l'effet provoqué par les gonadostimulines constitue peut-être la pierre angulaire qui nous permettra de pénétrer plus avant dans la connaissance des mécanismes de la différenciation du sexe. La féminisation des embryons traités par ces hormones ne doit pas être un phénomène fortuit, car des résultats semblables ont été notés par différents auteurs chez quatre espèces de Batraciens, trois espèces de Reptiles et chez un Oiseau (embryon de Poulet). Si les hormones gonadotropes d'origine exogène agissent seulement de façon indirecte, par l'intermédiaire d'une hormone stéroïde, il sera peut-être possible de mettre précocement celle-ci en évidence par des techniques histochimiques, et prouver ainsi que les stérols sont impliqués dans l'ensemble des phénomènes de la différenciation du sexe. Si, au contraire, des glycoprotéines voisines des hormones hypophysaires interviennent normalement à un stade précoce, des recherches histochimiques (réaction à l'A.P.S., par exemple) immuno-chimiques ou ultrastructurales devraient permettre de déceler leur présence. Enfin, dans la perspective d'un effet pathologique, la possibilité de découvrir à quel niveau du métabolisme agissent ces substances nous apporterait peut-être des renseignements sur les mécanismes physiologiques normaux.

La « théorie des stérols » trouve des arguments dans les recherches biochimiques récentes. Chez le Poulet par exemple, la mise en évidence des lipides (SCHEIB, 1959), du cholestérol (NARBAITZ et SABATINI, 1963), des enzymes intervenant dans la stéroïdogenèse (CHIEFFI et coll., 1964; NARBAITZ et KOLODNY, 1964) et différents procédés d'analyse biochimique (GALLIEN et LE FOULGOC, 1957; WENIGER, 1965) donnent des résultats concordants : la gonade embryonnaire peut synthétiser des stérols. Mais les échecs enregistrés chez les Mammifères placentaires, à la suite d'expériences d'injections d'hormones stéroïdes, doivent encore nous inciter à réfléchir. Un facteur génétique ne nous paraît pas être la cause exclusive de l'absence de réponse de la gonade des Mammifères. Nous avons

montré chez le Lézard vivipare que de semblables insuccès pouvaient être surmontés. Néanmoins, au fur et à mesure que l'on progresse dans l'enchaînement causal des étapes de l'organogenèse sexuelle, la probabilité de l'intervention d'un stérol s'accroît. A titre d'exemple, MARAUD (1963) conclut que l'organogenèse du tractus génital chez le Poulet mâle comporte une phase prénatale dans laquelle la régression des canaux de Müller est provoquée par une sécrétion testiculaire de nature inconnue, et une phase post-natale dans laquelle la formation de l'épididyme est induite par une substance du type de la testostérone, élaborée par le testicule.

La difficulté d'obtenir une interprétation cohérente des faits nous paraît être de nature expérimentale. Il nous semble probable que la plupart des expériences ne reproduisent que d'une manière imparfaite le déroulement des phénomènes naturels, ne miment que grossièrement des mécanismes beaucoup plus subtils que ceux que nous imaginons. Nous manions souvent de puissants agents morphogènes avec un discernement insuffisant. C'est donc en affinant nos méthodes expérimentales, mais surtout en développant les recherches directes de mise en évidence des composés biochimiques, que nous trouverons dans l'avenir le moyen de répondre aux questions fondamentales qui restent encore posées.

RÉSUMÉ

La première partie du travail est consacrée à l'étude des principales étapes de l'organogenèse des gonades, des canaux de Müller et des tubercules génitaux de l'embryon de Lézard vivipare.

Comme chez les autres Vertébrés, les glandes génitales s'organisent à partir de deux territoires topographiquement distincts : le cortex et la médulla. Le stade de bipotentialité sexuelle paraît très fugace et la persistance de territoires hétérosexuels, nulle ou minime, est inconstante. L'évolution du testicule est particulièrement rapide.

Les canaux de Müller ne s'édifient pas complètement chez les embryons mâles. Des différences de longueur apparaissent, entre les deux sexes, dès le stade 33 ou 34. Cette différenciation coïncide avec l'apparition des structures, mâles et femelles, dans les gonades. La régression des canaux, qui s'opère par la suite chez l'embryon mâle, est terminée à la naissance.

Chez tous les individus, des tubercules génitaux s'édifient au même moment que les canaux de Müller. L'ébauche passe par une période d'indifférence sexuelle, puis, à partir du stade 34 ou 35, évolue différemment chez les mâles et chez les femelles. Chez l'embryon mâle, le volume de ces organes augmente de façon importante. Chaque tubercule se transforme progressivement en pénis par l'acquisition de structures typiques, dont les plus caractéristiques sont la gouttière spermatique et le gland, lequel est un élargissement bilobé de l'extrémité apicale. Chez la plupart des femelles, de telles différenciations n'apparaissent pas, et la taille de l'organe diminue régulièrement depuis le stade 34 ou 35 jusqu'à la naissance.

Dans la deuxième partie, le phénomène de la différenciation du sexe est analysé, chez l'embryon, par les méthodes expérimentales.

Le rôle joué par les gonades embryonnaires dans la différenciation sexuelle des canaux de Müller et des tubercules génitaux est recherché par les méthodes de suppression et de greffe d'organes. Les expériences de greffe de régions cloacales et de castration s'accordent à montrer qu'une hormone ovarienne provoque la régression des tubercules génitaux chez la femelle, alors qu'une hormone testiculaire est probablement responsable de l'agénésie et de la régression des canaux de Müller chez le mâle. Dans des expériences de greffes de troncs, réalisant des parabioses, les hormones en circulation dans le sang déterminent une inhibition plus ou moins importante des gonades de l'un ou l'autre des partenaires. L'hormone gynogène, responsable de la régression des tubercules génitaux, ne provoque pas la formation d'un ovotestis chez un parabionte mâle.

L'administration d'hormones œstrogènes, d'hormones androgènes ou d'un mélange des deux principes ne provoque pas de phénomènes d'intersexualité dans les glandes génitales, mais seulement des inhibitions. Les hormones œstrogènes ne permettent pas d'obtenir le développement de canaux de Müller complets chez le mâle, et les hormones androgènes ne provoquent pas la régression des canaux de Müller chez la femelle. L'administration d'hormones œstrogènes entraîne la régression des tubercules génitaux du mâle, à condition d'être effectuée à un *stade critique*. L'hormone androgène stimule les tubercules génitaux de la femelle, lorsqu'elle est utilisée tardivement.

L'administration d'hormones gonadotropes hypophysaires provoque l'apparition de différents degrés de féminisation chez l'embryon mâle. Les canaux de Müller se développent et se maintiennent chez ce sexe. De plus, on obtient, pour certains stades de traitement, et certaines doses, une féminisation de la gonade se traduisant par une modification de la médulla et le développement d'un cortex; on observe aussi une légère inhibition du développement des tubercules génitaux.

Ensuite, des hormones stéroïdes ont été administrées en association avec des gonadostimulines. L'injection d'hormones androgènes ne contrarie pas l'effet féminisant des hormones hypophysaires. Les hormones œstrogènes exercent des effets qui diffèrent suivant le stade de l'administration. Injectées précocement, elles provoquent des inhibitions, comme dans les expériences dans lesquelles elles sont utilisées, seules. Au contraire, administrées tardivement, elles stimulent les structures femelles qui ont été induites par les gonadostimulines, et entraînent la régression des tubercules génitaux. On obtient, alors, une inversion presque complète du phénotype sexuel de l'embryon mâle.

L'hypophysectomie totale a été réalisée par décapitation précoce de l'embryon. La différenciation sexuelle des gonades, des canaux de Müller et des tubercules génitaux s'effectue normalement, en l'absence d'hypophyse.

Les différents résultats expérimentaux sont commentés pour chaque type d'intervention. La nature chimique des inducteurs sexuels est discutée à la fin de la deuxième partie, en fonction des différents résultats obtenus. S'il est hautement probable que les hormones ovariennes qui provoquent tardivement la régression des tubercules génitaux soient des stéroïdes, les résultats expérimentaux n'apportent pas d'arguments en faveur de leur intervention précoce dans l'orientation sexuelle de la gonade. L'effet morphogène puissant des gonadostimulines pose des problèmes nouveaux. Il n'est pas impossible que des substances de nature chimique différente soient successivement élaborées au cours de l'embryogénèse.

SUMMARY

Descriptive and experimental studies on the mode of development of the genital organs of the lizard *Lacerta vivipara* Jacquin.

The first part of the study concerns the principal stages of gonad, müllerian duct and genital tubercle organogenesis in the *Lacerta vivipara* embryo.

As in other Vertebrates, the gonads develop from two different areas: the cortex and the medulla. The bipotential stage is very transient and there is either no persistence at all of heterosexual tissue or only very small and inconstant remnants are present. The evolution of the testis is particularly rapid.

Müllerian ducts do not develop completely in the male embryo. Their length begins to differ in the two sexes as early as stages 33 or 34. This differentiation coincides with the appearance of male and female structures in the gonads. Degeneration of the ducts which occurs subsequently in the male, is complete at birth.

In all embryos there is simultaneous development of the genital tubercles and müllerian ducts. Initially the genital tubercles show no difference between the two sexes until stage 34 or 35 is reached when the size of these structures begins to increase considerably in the male embryos. Each tubercle gradually becomes a penis with the appearance of typical structures such as the sperm groove and the glans, the latter appears as a bilobate broadening of the apical extremity.

Such differentiation does not occur in most female embryos and the size of the tubercle diminishes regularly from stage 34 or 35 until birth.

In the second part of the study sexual differentiation of the embryo is analysed using different experimental techniques.

The role of the embryonic gonads in the sexual differentiation of the müllerian ducts and of the genital tubercles was investigated by means of ablation and grafting experiments.

The results of graft experiments of the cloacal area and of castration of the young demonstrate that an ovarian hormone provokes degeneration of the genital tubercles in the female, whereas it is probably a testicular hormone that is responsible for agenesis and degeneration of the müllerian ducts in the male. In trunk grafts on host embryos of the same age, resulting in a parabiosis, the hormones circulating in the blood may inhibit, to a lesser or greater degree, development of the gonads in either partner. Female hormone, which is responsible for the degeneration of the genital tubercles, does not induce the formation of ovotestes in the male partner.

The administration of œstrogens, androgens, or a mixture of the two does not cause gonadal intersexuality but has only inhibitory effects. Œstrogens are unable to provoke the complete development of the müllerian ducts in the male embryo, and androgens do not provoke degeneration of these ducts in the female. If done at a critical stage, the injection of œstrogens induces degeneration of the genital tubercles of the male embryo. In the female, the genital tubercles are stimulated by androgens if introduced in a late stage of development.

Administration of pituitary gonadotrophins provokes various degrees of feminization in the male embryo; the müllerian ducts develop and persist. Furthermore, when the treatment is made at certain stages and at certain dose

levels feminization of the gonad occurs; it is manifest by changes in the medulla and development of the cortex accompanied by slight inhibition of the development of the genital tubercles.

When steroids are given together with gonadotrophins, the injection of androgens with the latter did not counteract the feminizing effect of the pituitary hormones. With oestrogens, however, the effects varied according to the stage at which these were administered. Early injections had inhibitory effects, as in the experiments in which oestrogens were used alone; on the other hand, late administration caused stimulation of the female structures whose appearance had been induced by the pituitary hormones as well as provoking regression of the genital tubercles. Thus almost total reversal of the sex phenotype of the male embryo was obtained.

Total hypophysectomy by early decapitation of the embryo was not found to affect sex differentiation of the gonads, the müllerian ducts or the genital tubercles which proceeded to develop normally.

The results of each type of experiment are discussed. The chemical nature of the sex inductors is discussed. Although it is very probable that the ovarian hormones that cause late degeneration of the genital tubercles are steroids, the experimental results do not warrant their early influence on the sexual differentiation of the gonad. The strong morphogenic effects of the gonadotrophins pose new problems, and it may be that substances of a different chemical nature are successively produced during the process of normal embryogenesis.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN (B. M.), 1906 *a.* — The origin of the sex-cells of *Chrysemys*. *Anat. Anz.*, **29**, 217-236.
 — 1906 *b.* — The embryonic development of the rete-cords and sex-cords of *Chrysemys*. *Amer. Jour. Anat.*, **5**, 79-94.
 ANGEL (F.), 1927. — Sur une série de Lézards (*Lacerta vivipara* Jacq.) capturés dans le département du Puy-de-Dôme. *Bull. Mus. Hist. nat., Paris*, **33**, 218-221.
 — 1946. — Faune de France. Reptiles et Amphibiens. Paul Lechevallier, édit., Paris.
 BALFOUR (F. M.), 1878. — On the structure and development of the vertebrate ovary. *Quart. Jour. Micr. Sci.*, **18**, 383-438.
 BEAUMONT (J. DE), 1933. — La différenciation sexuelle dans l'appareil uro-génital du Triton et son déterminisme. *Arch. Entw. Mech.*, **129**, 120-179.
 BELLAIRS (R.), 1951. — Development of early reptile embryos *in vitro*. *Nature*, **167**, 687-688.
 BENOIT (J. A. A.), 1962. — Le rôle de l'hypophyse dans le développement des embryons de Vertébrés Amniotes à sang chaud. *Année biol.*, **1** (4^e série), 295-325.
 BERENBERG-GOSSLER (H. VON), 1914. — Ueber Herkunft und Wesen der sogenannten primären Urogenschleimzellen der Amnioten. *Anat. Anz.*, **47**, 241-264.
 BIMMER (A.), 1950. Metrische Untersuchungen über die Entwicklung der Nebennieren und der ihr benachbarten Organe bei Eidechsen. *Anat. Anz.*, **97**, 276-311.
 BRADLEY (E. M.), 1941. — Sex differentiation of chick and duck gonads as studied in homoplastic and heteroplastic host-graft combinations. *Anat. Rec.*, **79**, 507-530.
 BRAUN (M.), 1877. — Das Urogenitalsystem der einheimischen Reptilien. *Arbeit. a. d. zool. zootom. Inst. in Würzburg*, **4**, 113-228.
 BURGOS (M. H.) et PISANO (A.), 1958. — Effet des gonadotrophines purifiées sur la gonade du Crapaud *Bufo arenarum* après la métamorphose. *C. R. Soc. Biol.*, **153**, 488-489.
 — 1962. — Inversione sessuale della gonade di *Bufo arenarum* trattata con gonadotrofina purificata. *Arch. zool. ital.*, **47**, 177-187.

- BURNS (R. K.), 1950. — Sex transformation in the Opossum : some new results and a retrospect. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **39**, 467-481.
- 1959. — Later stages of cortical differentiation in experimentally transformed testes of Opossum embryos. *J. exp. Zool.*, **142**, 353-377.
- CANTUEL (P.), 1949. — Faune des Vertébrés du Massif Central de la France. Paul Lechevallier, édit., Paris.
- CHARNIER (M.), 1963. — Action de l'hormone mâle (hexahydrobenzoate de testostérone) sur les femelles d'*Agama agama*, Sauriens, Agamidæ. *C. R. Soc. Biol.*, **167**, 1470-1472.
- CHIEFFI (G.), MANELLI (H.), BOTTE (V.) et MASTROLIA (L.), 1964. — Sulla distribuzione del colesterolo e della $\Delta 5-3\beta$ idrossisteroide deidrogenasi nella gonade embrionale di pollo. *Ric. Sci.*, **2**, 77-84.
- Colloque sur la différenciation sexuelle chez les Vertébrés. Rapports et discussions. Paris, juin 1950. — Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1951 et *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **39**, 1950, 179-646.
- CORINALDESI (F.), 1927. — Innessi nell'allantoide di abbozzi di gonadi di embrioni di pollo. Ricerche sulla determinazione del sesso e sulla differenziazione sessuale. *Arch. f. exp. Zellforsch.*, **4**, 360-394.
- CRAINCEANU (A.) et PREDA (V.), 1954. — Actiunea hormonilor gonadotropi asupra diferentierii sexuale la amfibieni. *Studii si cerc. de endocrinologie*, T. V, **1-2**, 262.
- DANTCHAKOFF (V.), 1935. — Sur l'inversion sexuelle expérimentale de l'ébauche ovarique chez l'embryon de Poulet. *C. R. Soc. Biol.*, **120**, 597.
- 1937. — Sur l'action de l'hormone sexuelle femelle chez les Reptiles. *C. R. Acad. Sc.*, **205**, 424-427.
- 1938. — Ueber chemische Werkzeuge bei der Realisation normal bestimmter embryonaler geschlechtlicher Histogenese bei Reptilien. *Arch. Entw. Mech.*, **138**, 465-521.
- 1939. — Sur la déficience d'effets de l'hormone femelle dans l'histogénèse induite chez le Léopard et sur les moyens d'y remédier. *C. R. Soc. Biol.*, **130**, 248-249.
- DANTCHAKOFF (V.) et KINDERIS (A.), 1938. — Sur les réactions que provoque la folliculine dans les ébauches des oviductes et les gonades chez le léopard. *C. R. Soc. Biol.*, **127**, 602-605.
- DELSOL (M.), 1959. — L'action de l'hormone gonadotrope sur les gonades de tétards très jeunes d'*Alytes obstetricans* Laur. *C. R. Soc. Biol.*, **153**, 1003-1007.
- DENNIS (E. A.), 1936. — Gonad differentiation in the chick embryo as studied in heterosexual graft and host-graft combinations. *Physiol. Zool.*, **4**, 204-230.
- DODD (J. M.), 1960. — Genetical and environmental aspects of sex determination in cold-blooded vertebrates. *Mem. Soc. Endocrinol.*, **7**, 17-44.
- DORNESCU (G. T.) et DORNESCU (M.), 1960. — Un caz de intersexualitate la *Lacerta viridis*. *Morfol. norm. patol.*, **5**, 269-270.
- DUFAURE (J. P.), 1961 a. — Le développement de l'appareil génital du Léopard vivipare. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **50**, 69-80.
- 1961 b. — Action des hormones sexuelles sur les pénis des embryons de Léopard vivipare (*Zootoca vivipara*). *C. R. Ac. Sc.*, **253**, 1130-1131.
- 1962. — Action du benzoate d'œstradiol sur les conduits urogénitaux de l'embryon de Léopard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin). *C. R. Ac. Sc.*, **254**, 3261-3263.
- 1963. — Sur l'évolution des tubercules génitaux de l'embryon de Léopard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin). *C. R. Ac. Sc.*, **257**, 3036-3039.
- 1964 a. — Action de différents œstrogènes sur les territoires müllériens de l'embryon femelle de Léopard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin). *C. R. Ac. Sc.*, **258**, 711-713.
- 1964 b. — Sur la réceptivité aux hormones sexuelles des tubercules génitaux de l'embryon de Léopard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin). *C. R. Soc. Biol.*, **158**, 521-523.
- 1964 c. — Des hormones gonadotropes ont-elles un effet féminisant chez les embryons mâles de Léopard vivipare ? *C. R. Ac. Sc.*, **258**, 3758-3760.
- 1964 d. — Croissance et différenciation des canaux de Müller chez l'embryon de Léopard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin). *C. R. Soc. Biol.*, **158**, 1501-1503.

- 1964 e. — Survie et développement d'embryons de Lézard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin) privés de la région moyenne du corps à un stade précoce. *C. R. Ac. Sc.*, **259**, 1211-1214.
- 1964 f. — Sur la différenciation sexuelle des tubercules génitaux de l'embryon de Lézard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin) en greffe allantoidienne. *C. R. Ac. Sc.*, **259**, 3075-3078.
- 1964 g. — Greffe allantoidienne de la région cloacale d'embryons de Lézard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin). *C. R. Soc. Biol.*, **158**, 2062-2065.
- 1965 a. — Féminisation de l'embryon mâle de Lézard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin) par des gonadostimulines hypophysaires. *C. R. Ac. Sc.*, **260**, 2319-2322.
- 1965 b. — Sur la genèse de certaines malformations des canaux de Müller : observations histologiques chez l'embryon de Lézard vivipare. *C. R. Ac. Sc.*, **260**, 2591-2594.
- 1965 c. — Effets de l'administration de gonadostimulines et d'hormones stéroïdes sur la différenciation sexuelle de l'embryon de Lézard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin). *C. R. Soc. Biol.*, **159**, 652-654.
- 1965 d. — La destruction précoce des gonades de l'embryon de Lézard vivipare par irradiation (rayons X) et son effet sur le développement des tubercules génitaux. *C. R. Ac. Sc.*, **261**, 1735-1737.
- 1965 e. — Effet féminisant d'une préparation de L.H. chez l'embryon mâle de Lézard vivipare. *C. R. Soc. Biol.*, **159**, 1504-1506.
- DUFAURE (J. P.) et HUBERT (J.), 1961. — Table de développement du Lézard vivipare : *Lacerta (Zootoca) vivipara* Jacquin. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **50**, 309-328.
- 1965. — Origine et migration des gonocytes primordiaux chez l'embryon de Lézard vivipare (*Lacerta vivipara* Jacquin). *C. R. Ac. Sc.*, **261**, 237-240.
- FELIX (W.) et BUHLER (A.), 1906. — Die Entwicklung der Keimdrüsen und ihrer Ausführungsgänge. In HERTWIG, Handb. d. vergl. v. exper. Entwicklungslehre d. Wirbeltiere, vol. 3, pt. 1, 619-896, Gustav Fisher, édit., Jena.
- FLECK (O.), 1910. — Die Entwicklungsgeschichte des Urogenital systems beim Gecko (*Platydictylus annul.*). *Anat. Hefte, I Abt.*, **41**, 435-493.
- FORBES (T. R.), 1934. — Effect of injections of pituitary whole gland extract on immature Alligator. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, **31**, 1129.
- 1937. — Studies on the reproductive system of the Alligator. I. The effects of prolonged injections of pituitary whole gland extract in the immature Alligator. *Anat. Rec.*, **70**, 113-133.
- 1938 a. — Studies on the reproductive system of the Alligator. II. The effects of prolonged injections of œstrone in the immature Alligator. *J. exp. Zool.*, **78**, 335-367.
- 1938 b. — Studies on the reproductive system of the Alligator. III. The action of testosterone on the accessory sex structures of recently hatched female Alligators. *Anat. Rec.*, **72**, 87-95.
- 1939. — Studies on the reproductive system of the Alligator. V. The effects of injections of testosterone propionate in immature Alligators. *Anat. Rec.*, **75**, 51-57.
- 1940 a. — Studies on the reproductive system of the Alligator. IV. Observations on the development of the gonad, the adrenal cortex, and the müllerian duct. *Contr. Embryol. Carneg. Inst.*, **174**, 129-155.
- 1940 b. — Studies on the reproductive system of the Alligator. VI. Further observations on heterosexual structures in the female Alligator. *Anat. Rec.*, **77**, 343-365.
- 1941. — Observations on the urogenital anatomy of the adult male lizard, *Sceloporus*, and on the action of implanted pellets of testosterone and of estrone. *J. Morph.*, **68**, 31-69.
- 1956. — The development of the reproductive system of a lizard, *Anolis carolinensis*. *Amer. Jour. Anat.*, **98**, 139-150.
- 1964. — Intersexuality in Reptiles. In ARMSTRONG (C. N.) et MARSHALL (A. J.). Intersexuality in Vertebrates including Man. Academic Press, London, New-York.

- FORSBERG (J. G.), 1963. — Derivation and differentiation of the vaginal epithelium. Thèse, Lund (Suède), 197 pages.
- FRANKENBERGER (Z.), 1923. — Sur les ovules rudimentaires dans les testicules de *Lacerta vivipara* Jacq. *Bull. intern. Acad. Sc. Prague*, **23**, 144-151.
- FUGO (N. W.), 1940. — Effects of hypophysectomy in the chick embryo. *J. exp. Zool.*, **85**, 271-297.
- FUGO (N. W.) et WITSCHI (E.), 1938. — Removal of the hypophyseal primordium in the chick during the second day of incubation. *Acta Biol. Latvica*, **8**, 73-79.
- GAARENSTROOM (J. H.), 1939. — Action of sex hormones on the development of the müllerian duct of the chick embryo. *J. exp. Zool.*, **82**, 31-46.
- GADOW (H.), 1888. — Remarks on the cloaca and on the copulatory organs of the Amniota. *Phil. Transact. Roy. Society of London*, **178**, 5-39.
- GALLIEN (L.), 1937. — Action masculinisante du propionate de testostérone dans la différenciation du sexe chez *Rana temporaria*. *C. R. Ac. Sc.*, **205**, 375-377.
- 1944. — Recherches expérimentales sur l'organogénèse sexuelle chez les Batraciens Anoures. *Bull. biol. Fr. et Belg.*, **78**, 257-359.
- 1958. — Problèmes et concepts de l'embryologie expérimentale. Gallimard, édit., Paris.
- 1959. — Analyse des effets des hormones stéroïdes dans la différenciation sexuelle des Amphibiens. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **48 bis**, 83-100.
- GALLIEN (L.) et LE FOULGOC (M. T.), 1957. — Détection par fluorimétrie et colorimétrie de stéroïdes sexuels dans les gonades embryonnaires de Poulet. *C. R. Soc. Biol.*, **151**, 1088-1089.
- GASPARRO (E.), 1908. — Osservazioni sull' origine delle cellule sessuali nel *Gonygylus ocellatus*. *Monit. zool. ital.*, **19**, 105-116.
- GODET (R.), 1961. — Action du propionate de testostérone sur les jeunes Crocodiles (*Crocodilus niloticus*) de sexe femelle. *C. R. Soc. Biol.*, **155**, 394-395.
- GREENE (R. R.) et BURRILL (M. W.), 1940. — Experimental intersexuality: the effects of combined oestrogens and androgens on the embryonic sexual development of the Rat. *Am. J. Physiol.*, **129**, 368.
- GREENWOOD (A. W.), 1925. — Gonad grafts in embryonic chicks and their relation to sexual differentiation. *Brit. J. exp. Biol.*, **2**, 165-188.
- GRIGNON (G.) et GRIGNON (M.), 1961. — Sur la cytologie de la glande pituitaire du lézard ovovivipare *Zootoca vivipara* Jacquin au cours de la vie embryonnaire. *C. R. Soc. Biol.*, **155**, 367-370.
- GROENENDIJK-HUIJBERS (M. M.), 1960. — Functional characteristics of the testicular hormone in the chick embryo. *Anat. Rec.*, **137**, 237-249.
- GRUENWALD (P.), 1937. — Zur Entwicklungsmechanik des Urogenitalsystems beim Hühn. *Roux' Arch. f. Entwicklungsmech.*, **136**, 786-813.
- 1938. — Entwicklungsmechanische Untersuchungen über die Genese einiger Fehlbildungen des Urogenitalsystems. *Beitr. z. path. Anat.*, **100**, 309-322.
- 1941. — The relation of the growing müllerian duct to the wolffian duct and its importance for the genesis of malformation. *Anat. Rec.*, **81**, 1-19.
- HAMILTON (T. H.), 1961. — Studies on the physiology of urogenital differentiation in the chick embryo. I. Hormonal controls of sexual differentiation of müllerian ducts. *J. exp. Zool.*, **146**, 265-274.
- HARTLEY (R. T.), 1945. — Effects of sex hormones on the development of the urogenital system in the garter snake. *J. Morph.*, **76**, 115-131.
- HERLANT (M.), 1933. — Recherches histologiques et expérimentales sur les variations cycliques du testicule et des caractères sexuels secondaires chez les Reptiles. *Arch. de Biol.*, **44**, 347-468.
- HILL (J. P.), 1893. — Note on the presence of vestigial müllerian ducts in a full-grown lizard (*Amphibolurus muricatus*). *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **8** (cité d'après TAYLER, 1918).
- HOFFMANN (C. K.), 1889. — Zur Entwicklungsgeschichte der Urogenitalorgane bei den Reptilien. *Zeitschr. f. wissenschaft. Zool.*, **48**, 260-300.
- HOLDER (L. A.) et BELLAIRS (A. d'A.), 1962. — The use of Reptiles in experimental embryology. *Brit. J. Herpet.*, **3**, 54-61.
- HOLYOKE (E. A.), 1956. — The differentiation of embryonic ovaries and testes grafted together in adult hosts in the rabbit. *Anat. Rec.*, **124**, 307.

- 1957. — The differentiation of embryonic gonads grafted to adult gonads in the rabbit. *Anat. Rec.*, **127**, 470.
- HOWES (G. B.), 1887. — On the vertigial structures of the reproductive apparatus in the male of the green lizard. *J. Anat. and Physiol.*, **21**, 185-189.
- HUIJBERS (M. M.), 1951. — The influence of the gonads on the development of the reproductive system in the chick embryo. Summary of thesis, Amsterdam.
- IWASAWA (H.), 1958. — Différenciation anormale de la glande du têtard provoquée par l'injection de gonadotrophine hypophysaire. *Zool. Magaz.*, **67**, 214-216.
- JACQUET (M.), 1895. — Note sur un cas d'hermaphrodisme incomplet chez le *Lacerta agilis*. *Bibliogr. Anat.*, **3**, 267.
- JARVIS (M. M.), 1908. — The segregation of the germ-cells of *Phrynosoma cornutum*. *Biol. Bull.*, **15**, 119-126.
- JOST (A.), 1946 a. — Castration de l'embryon femelle de Lapin. *C. R. Soc. Biol.*, **140**, 774.
- 1946 b. — Castration de l'embryon mâle de Lapin. Données préliminaires. *C. R. Soc. Biol.*, **140**, 938.
- 1947 a. — Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de Lapin. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **36**, 151-200, 242-315.
- 1947 b. — Expériences de décapitation de l'embryon de Lapin. *C. R. Ac. Sc.*, **225**, 322-323.
- 1951. — Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de Lapin. IV. Organogenèse sexuelle masculine après décapitation du fœtus. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **40**, 247-281.
- JOST (A.), CHODKIEWICZ (M.) et MAULÉON (P.), 1963. — Intersexualité du fœtus de Veau produite par des androgènes. Comparaison entre l'hormone fœtale responsable du free-martinisme et l'hormone testiculaire adulte. *C. R. Ac. Sc.*, **256**, 274-276.
- KELLER (K.) et TANDLER (J.), 1916. — Ueber das Verhalten der Eihäute bei der Zwillingssträchtigkeit des Rindes. *Wien. tierärztl. Wochenschr.*, **3**, 513-526.
- KINYON (N.) et WATERSON (R. L.), 1958. — Reduced endocrine activity of ovaries of hypophysectomised duck embryos as indicated by modified development of genital tubercle and syrinx. *Physiol. Zool.*, **31**, 60-72.
- LANTZ (L. A.), 1923. — Hermaphroditisme partiel chez *Lacerta saxicola*. *Bull. Soc. zool. France*, **48**, 289-290.
- LEROY (F.), 1956. — Développement et différenciation sexuelle des canaux de Müller chez un Lacertilien (*Chamaeleon bitanaiatus*). *Arch. de Biol.*, **67**, 657-683.
- LEYDIG (F. R.), 1872. — Die in Deutschland lebenden Arten der Saurier. *Verlag der H. Laupp'schen Buchhandlung*, Tübingen.
- LILLIE (F. R.), 1916. — The theory of free-martin. *Science*, **43**, 611-613.
- LUTZ (H.) et DUFAURE (J. P.), 1960. — Culture d'embryons et d'organes du Lézard vivipare (*Lacerta vivipara*). *C. R. Ac. Sc.*, **250**, 2456-2458.
- LUTZ (H.) et LUTZ-OSTERTAG (Y.), 1959. — Free-martinisme spontané chez les Oiseaux. *Develop. Biol.*, **1**, 364-376.
- LUTZ-OSTERTAG (Y.), 1954. — Contribution à l'étude du développement et de la régression des canaux de Müller chez l'embryon d'Oiseau. *Bull. biol. Fr. et Belg.*, **88**, 333-412.
- 1964. — Action du stilbæstrol sur les canaux de Müller de l'embryon de Caille (*Coturnix coturnix japonica*). *C. R. Ac. Sc.*, **259**, 879-881.
- LUTZ-OSTERTAG (Y.) et DIDIER (E.), 1961. — A propos du free-martinisme spontané chez les Oiseaux. Action des testicules sur l'embryon de Poulet femelle. *C. R. Soc. Biol.*, **155**, 2332-2334.
- LUTZ-OSTERTAG (Y.) et NÈGRE (CH.), 1960. — Contribution à l'étude du free-martinisme chez les Oiseaux. *C. R. Soc. Biol.*, **154**, 2284-2286.
- MACINTYRE (M. N.), 1956. — Effect of the testis on ovarian differentiation in heterosexual embryonic rat gonad transplants. *Anat. Rec.*, **124**, 27-45.
- MACINTYRE (M. N.), BAKER (L. Jr) et WYKOFF (T. W.), 1959. — Effect of the ovary on testicular differentiation in heterosexual embryonic rat gonad transplants. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **48 bis**, 141-153.
- MACINTYRE (M. N.), HUNTER (J. E.) et MORGAN (A. H.), 1960. — Spatial limits of activity of fetal gonadal inductors in the rat. *Anat. Rec.*, **138**, 137-147.

- MARAUD (R.), 1963. — Recherches expérimentales sur les facteurs inducteurs de la formation de l'épididyme du coq (*Gallus gallus*). *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **52**, 83-127.
- MARIN (G.) et SABBADIN (A.), 1959. — Sviluppo e differenziamento delle gonadi in *Lacerta sicula campestris* (Betta). *Rend. dell' Accad. Naz. dei Lincei*, **26**, 59-62.
- MATTHEY (R.), 1949. — Les chromosomes des Vertébrés. F. Rouge, édit., Lausanne.
- MENDIETTA (L.), 1963. — Origine e differenziamento della gonade in « *Gongylus ocellatus* ». *Monit. zool. italiano*, **70-71**, 201-210.
- MIHALKOVICS (G. von), 1885. — Untersuchungen über die Entwicklung des Harn- und Geschlechtsapparates der Amnioten. *Internat. Monatschr. f. Anat. u. Histol.*, **2**, 41-62, 65-106, 284-339, 347-385, 387-433, 435-485.
- MOFFAT (L. A.) et BELLAIRS (A. D'A.), 1964. — The regenerative capacity of the tail in embryonic and post-natal lizards (*Lacerta vivipara* Jacquin). *J. of Emb. and exp. Morph.*, **12**, 769-786.
- MOORE (C. R.), 1943. — Sexual differentiation in the opossum after early gonadectomy. *J. exp. Zool.*, **94**, 415-461.
- NAKAO (Y.), 1939. — Recherches sur les greffes chorio-allantoidiennes des tissus embryonnaires du Léopard. *Zoological Magazine*, **51**, 683 (cité d'après L. A. HOLDER et A. D'A. BELLAIRS, 1962).
- NARBAITZ (R.) et SABATINI (M. T.), 1963. — Histochemical demonstration of cholesterol in differentiating chick gonads. *Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat.*, **61**, 1-5.
- NARBAITZ (R.) et KOLODNY (L.), 1964. — Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in differentiating chick gonads. *Zeitschr. Zellforsch., u. mikr. Anat.*, **63**, 612-617.
- NEW (D. A. T.), 1955. — A new technique for the cultivation of the chick embryo *in vitro*. *J. of Emb. and exp. Morph.*, **3**, 326-331.
- OSTROUMOFF (A.), 1888. — Zur Entwicklungsgeschichte der Eidechsen. *Zool. Anz.*, **11**, 620-622.
- PADOA (E.), 1950. — Grenouilles et stérols. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **39**, 314-333.
- PANIGEL (M.), 1956. — Contribution à l'étude de l'ovoviviparité chez les Reptiles : gestation et parturition chez le Léopard vivipare : *Zootoca vivipara*. *Ann. Sc. nat. Zoologie*, **18**, 569-668.
- PASTEELS (J.), 1953. — Contribution à l'étude du développement des Reptiles. I. Origine et migration des gonocytes chez deux Lacertiliens : *Mabuia megalaria* et *Chamaeleo biteniatatus*. *Arch. de Biol.*, **64**, 227-245.
- 1962, paru 1964. — La lignée germinale chez les Reptiles et les Mammifères. In L'origine de la lignée germinale chez les Vertébrés et quelques groupes d'Invertébrés. *Séminaire de la chaire d'Embryologie expérimentale du Collège de France*, 1962. Hermann, édit., Paris.
- PETER (K.), 1904. — Normen tafel zur Entwicklungsgeschichte der Zauneidechse (*Lacerta agilis*). In Franz KEIBEL, Normen tafeln zur Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere, vol. 4, Gustav Fisher, édit., Jena.
- PONSE (K.), 1949. — La différenciation du sexe et l'intersexualité chez les Vertébrés. F. Rouge, édit., Lausanne.
- PREDA (V.) et BILTUI-MOSOIGO (St.), 1959. — Diferentierea dirijata a sexului la gaina sub actiunea hormonului gonadotrop corial. *Articole si lucrari stiintifice Institutul de Medicina si Farmacie*, 47-49, Cluj (Roumanie).
- PUCKETT (W. O.), 1940. — Some effects of crystalline sex hormones on the differentiation of the gonads of an undifferentiated race of *Rana catesbiana* tadpoles. *J. exp. Zool.*, **84**, 39-51.
- RAYNAUD (A.), 1940 a. — Effets d'un mélange de dipropionate d'œstradiol et de propionate de testostérone sur la différenciation sexuelle de l'embryon mâle de Poulet. *C. R. Acad. Sc.*, **211**, 489-490.
- 1940 b. — Effets sur la différenciation sexuelle des embryons d'un mélange de dipropionate d'œstradiol et de propionate de testostérone injecté à la Souris en gestation. *C. R. Acad. Sc.*, **211**, 572-574.
- 1942. — Modification expérimentale de la différenciation sexuelle des embryons de Souris après action des hormones androgènes et œstrogènes. *Actual. scient. et industr.*, n° **925-926**, 1-436. Hermann et C^{ie}, édit., Paris.

- 1950. — Recherches expérimentales sur le développement de l'appareil génital et le fonctionnement des glandes endocrines des fœtus de Souris et de Mulot. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **39**, 518-569.
- 1959 a. — Une technique permettant d'obtenir le développement des œufs d'Orvet (*Anguis fragilis* L.) hors de l'organisme maternel. *C. R. Ac. Sc.*, **249**, 1715-1717.
- 1959 b. — Développement et croissance des embryons d'Orvet (*Anguis fragilis* L.) dans l'œuf incubé *in vitro*. *C. R. Ac. Sc.*, **249**, 1813-1815.
- 1959 c. — Observations préliminaires sur le développement des organes sexuels de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *Bull. Soc. zool. France*, **84**, 458-471.
- 1960 a. — Sur la différenciation sexuelle des embryons d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *Bull. Soc. zool. France*, **85**, 210-230.
- 1960 b. — Essais de destruction par irradiation localisée au moyen de rayons X, des ébauches hypophysaires de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **251**, 2416-2418.
- 1961. — Le développement des canaux de Müller chez l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Soc. Biol.*, **155**, 1893-1895.
- 1962 a. — Les premiers stades de la formation des canaux de Müller chez l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *Bull. biol. Fr. et Belg.*, **96**, 281-304.
- 1962 b. — Les premiers stades de la formation du cortex surrénal chez l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *Bull. Soc. zool. France*, **87**, 98-120.
- 1962 c. — Les relations entre l'ébauche du cortex surrénal et le mésonéphros chez l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **254**, 2436-2438.
- 1962 d. — Une technique de décapitation du jeune embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **255**, 2829-2831.
- 1962 e. — Le développement de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.) décapité à un stade précoce. *C. R. Ac. Sc.*, **255**, 3041-3043.
- 1963 a. — La formation des ébauches phalliques chez l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **257**, 1966-1969.
- 1963 b. — Le développement de la glande thyroïde chez l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.) décapité à un stade précoce. *C. R. Ac. Sc.*, **257**, 2536-2541.
- 1963 c. — Le développement et la différenciation au cours de la vie embryonnaire des ébauches phalliques de l'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **257**, 2721-2724.
- 1964 a. — Effets du propionate de testostérone sur le développement des conduits génitaux de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **259**, 3628-3631.
- 1964 b. — Effets du benzoate d'œstradiol sur le développement des conduits génitaux de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **259**, 4134-4137.
- 1965 a. — Effets d'une hormone œstrogène sur la différenciation sexuelle de l'embryon de Lézard vert (*Lacerta viridis* Laur.). *C. R. Ac. Sc.*, **260**, 4611-4614.
- 1965 b. — Sur le phénomène de dégénérescence cellulaire dans les extrémités caudales des canaux de Müller des embryons de Reptiles. *C. R. Ac. Sc.*, **260**, 5888-5891.
- 1965 c. — La formation et la croissance des canaux de Müller de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.) étudiées dans leurs rapports avec la genèse des malformations de ces conduits. *C. R. Ac. Sc.*, **260**, 6994-6997.
- RAYNAUD (A.) et FRILLEY (M.), 1946. — Irradiation au moyen des rayons X, des ébauches des glandes génitales de l'embryon de Souris, au 15^e jour de la vie intra-utérine. *C. R. Ac. Sc.*, **223**, 1187.
- RAYNAUD (A.) et PIEAU (Cl.), 1964. — Les canaux de Wolff de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **258**, 4850-4853.
- 1965. — La formation et la position de l'ébauche du canal de Müller de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Soc. Biol.*, **159**, 333-337.
- RAYNAUD (A.) et RAYNAUD (M^{me} J.), 1961. — L'activité sécrétoire précoce des glandes endocrines de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **253**, 2254-2256.
- 1963. — Culture, sur milieu synthétique, de tronçons du corps, contenant des ébauches de glandes endocrines de jeunes embryons d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *Bull. Soc. zool. France*, **88**, 239-250.

- 1964. — Le développement et la différenciation des canaux de Müller chez les embryons d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **258**, 4144-4147.
- RAYNAUD (M^{me} J.) et RAYNAUD (A.), 1962. — Culture *in vitro* de la région du cou de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *Bull. Soc. zool. France*, **87**, 229-235.
- 1963. — Données histologiques et histochimiques relatives à l'épithélium de la paroi de l'urodéeum de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Soc. Biol.*, **157**, 8-13.
- RAYNAUD (M^{me} J.), RAYNAUD (A.) et PIEAU (CL.), 1963. — Sur les différences sexuelles dans la structure des reins des jeunes Orvets (*Anguis fragilis* L.). *C. R. Ac. Sc.*, **257**, 3231-3234.
- REGAMEY (J.), 1931. — Un cas d'intersexualité chez le Lézard vert. *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.*, **57**, 311-312.
- 1935. — Les caractères sexuels du Lézard (*Lacerta agilis* L.). *Rev. Suisse Zool.*, **42**, 87-168.
- RISLEY (P. L.), 1933 a. — Contributions on the development of the reproductive system in the musk turtle, *Sternotherus odoratus* (Latreille). I. The embryonic origin and migration of the primordial germ cells. *Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat.*, **18**, 459-492.
- 1933 b. — Contributions on the development of the reproductive system in the musk turtle, *Sternotherus odoratus* (Latreille). II. Gonadogenesis and sex differentiation. *Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat.*, **18**, 493-543.
- 1938. — Development of embryonic gonad grafts in juvenile diamond-back terrapins. *Anat. Rec.*, **72**, 101.
- 1940. — Intersexual gonads of turtle embryos following injection of male sex hormone. *J. Morph.*, **67**, 439-453.
- 1941. — A comparison of effects of gonadotropic and sex hormones on the urogenital systems of juvenile terrapins. *J. exp. Zool.*, **87**, 477-508.
- ROMANOFF (A. L.), 1960. — The avian embryo. The Macmillan Company, édit., New-York.
- ROUGH (R.), 1946. — The effect of the adult anterior pituitary hormone on the tadpoles and the immature male frogs of the bullfrog *Rana catesbiana*. *The biologic. Bull.*, **90**, 291-300.
- SCHEIB (D.), 1959. — Sur la détection des lipides figurés dans les gonades de l'embryon de Poulet. Distribution, nature et signification de ces substances. *Ann. Histochem.*, **4**, 33-50.
- SCHOFF (F.), 1888. — Zur Kenntnis des Urogenitalsystems der Saurier. *Zool. Anz.*, **11**, 189-190.
- SIMKINS (C. S.) et ASANA (J. J.), 1931. — Development of the sex gland of Calotes. I. Cytology and growth of the gonads prior to hatching. *Quart. Jour. Micr. Sci.*, **74**, 133-149.
- STEPHAN (Y.), 1958. — Etude préliminaire de l'action de quelques œstrogènes et androgènes sur le tractus génital de la jeune Tortue d'eau *Emys leprosa* S. *Ann. Endocrinol.*, **19**, 481-506.
- 1963. — Contribution à l'étude expérimentale de l'intersexualité chez un Chélonien : *Emys leprosa* S. *Bull. biol. Fr. et Belg.*, **97**, 363-467.
- STOLL (R.), 1948. — Action de quelques hormones sexuelles sur le développement des canaux de Müller de l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **37**, 118-135.
- 1950. — Sur la différenciation sexuelle de l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **39**, 415-423.
- STOLL (R.) et MARAUD (R.), 1952 a. — Sur l'action des mélanges d'hormones dans la différenciation sexuelle de l'embryon mâle de Poulet. *Arch. d'Anat., d'Histol. et d'Embryol.*, **34**, 405-418.
- 1952 b. — Action des hormones sexuelles sur l'évolution des canaux de Müller de l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **41**, 260-280.
- TAYLER (N.), 1918. — A case of hermaphroditism in a Lizard, *Lacerta viridis*. *Proc. zool. Soc. Lond.*, 223-230.
- THIÉBOLD (J.), 1962. — Agénésie partielle des canaux de Müller, provoquée par la greffe de testicules embryonnaires chez l'embryon de Poulet. *C. R. Ac. Sc.*, **254**, 2450-2451.

- 1964. — Contribution à l'étude de l'organogenèse uro-génitale et de son déterminisme chez un Poisson Elasmobranché : la petite Roussette *Scyliorhinus caniculus* (L.). *Bull. biol. Fr. et Belg.*, **98**, 253-347.
- TURNER (C. D.) et ASAKAWA (H.), 1964. — Experimental reversal of germ cells in ovaries of fetal mice. *Science*, **143**, 1344-1345.
- UNTERHOSSEL (P.), in FLEISCHMANN (A.), 1902. — Morphologische Studien über Kloake und Phallus der Amnioten. *Morph. Jahrb.*, **30**, 541-581.
- VAKAET (L.) et PINTELON (L.), 1959. — Un milieu simple pour la culture d'organes *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, **153**, 174-176.
- VIVIER (J. H.), 1959. — Réactivité particulière du cortex gonadique et de l'épithélium du canal de Müller à l'action des hormones sexuelles chez le jeune mâle d'*Emys leprosa* S., traité après l'éclosion. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **48 bis**, 297-312.
- VIVIER (J. H.) et STEFAN (Y.), 1958. — Féminisation des gonades de jeunes tortues d'eau *Emys leprosa*, mâles, par action du diéthylstilbœstrol. *C. R. Soc. Biol.*, **152**, 649-652.
- 1959. — Mise en évidence de la perte progressive de la réactivité spécifique de l'épithélium müllérien à l'action des hormones femelles au cours de la différenciation sexuelle chez le jeune mâle d'*Emys leprosa*. *C. R. Soc. Biol.*, **153**, 1236-1238.
- WELDON (W. F. R.), 1883. — Note on the early development of *Lacerta muralis*. *Quart. J. Micr. Sci.*, **23**, 134-144.
- 1885. — On the suprarenal bodies of Vertebrata. *Quart. J. Micr. Sci.*, **25**, 137-150.
- WELLS (L. J.), 1946. — Effects of androgen upon reproductive organs of normal and castrated fetuses with note on adrenalectomy. *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, **63**, 417-419.
- WENIGER (J. P.), 1965. — L'hormone sexuelle de l'embryon de Poulet femelle est-elle un stéroïde phénolique ? *C. R. Ac. Sc.*, **261**, 1427-1429.
- WIEDERSHEIM (R.), 1890. — Ueber die Entwicklung des Urogenitalsapparates bei Crocodilien und Schildkröten. *Arch. f. mikr. Anat.*, **36**, 410-464.
- 1891. — Development of the urogenital apparatus of crocodiles and chelonians. *J. Roy. micr. Soc.*, 23-44 (cité d'après FORBES, 1940 a).
- WILLIER (B. H.), 1925. — The behavior of embryonic chick gonads when transplanted to embryonic chick hosts. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, **23**, 26-30.
- WILLIER (B. H.), GALLAGHER (T. F.) et KOCH (F. C.), 1935. — Sex modification in the chick embryo resulting from injections of male and female hormones. *Proc. of the Nation. Acad. of Sc.*, **21**, 625-631.
- WILSON (G.), 1896. — The development of the ostium abdominale tubae in the crocodile. *Anat. Anz.*, **12**, 79-85.
- 1900. — The development of the Müllerian ducts of Reptiles. *Trans. Roy. Soc. Edinburgh*, **39**, 613-621.
- WITSCHI (E.), 1914. — Studien ueber die Geschlechtsbestimmung bei Froeschen. *Arch. mikr. Anat.*, **86**, 1-50.
- 1950. — Génétique et physiologie de la différenciation du sexe. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **39**, 215-240.
- WOLFF (EM.), 1950. — La différenciation sexuelle normale et le conditionnement hormonal des caractères sexuels, précoces, tubercule génital et syrinx, chez l'embryon de Canard. *Bull. biol. Fr. et Belg.*, **84**, 119-193.
- WOLFF (EM.) et LUTZ-OSTERTAG (Y.), 1961. — Free-martinisme spontané et expérimental chez l'embryon de Canard. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **50**, 439-468.
- WOLFF (ET.), 1947. — Recherches sur l'intersexualité expérimentale produite par la méthode des greffes de gonades à l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **36**, 69-90.
- 1949 a. — Sur une technique de castration chez l'embryon d'Oiseau. *C. R. Soc. Biol.*, **143**, 526-529.
- 1949 b. — La définition du type asexué chez l'embryon d'Oiseau. *C. R. Ac. Sc.*, **229**, 248-250.

- 1950. — Le rôle des hormones embryonnaires dans la différenciation sexuelle des Oiseaux. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **39**, 426-444.
- 1964, paru 1965. — Perspectives de l'embryologie. Problèmes généraux et problème spécial de la différenciation sexuelle. *Ann. Fac. Sc. de l'Univ. de Clermont*, **26**, 17-23 (Livre jubilaire pour le 70^e anniversaire du Professeur Raymond HOVASSE).
- WOLFF (ET.) et GINGLINGER (A.), 1935. — Sur la transformation des Poulets en intersexués par injection d'hormone femelle (folliculine) aux embryons. *Arch. d'Anat., d'Histol. et d'Embryol.*, **20**, 219-278.
- WOLFF (ET.) et HAFEN (K.), 1952. — Sur une méthode de culture d'organes embryonnaires *in vitro*. *Tex. Rep. Biol. Med.*, **10**, 463-472.
- WOLFF (ET.) et HAMPE (A.), 1950. — Sur la reprise de la poussée des cordons sexuels mâles sous l'influence d'injections d'une hormone femelle à l'embryon d'Oiseau. *C. R. Soc. Biol.*, **154**, 1100-1102.
- WOLFF (ET.) et LUTZ (H.), 1939. — Sur une modification apportée à la technique des greffes chorio-allantoïdiennes chez l'embryon de Poulet. *C. R. Soc. Biol.*, **132**, 117-120.
- WOLFF (ET.), STRUDEL (G.) et WOLFF (M^{me} ET.), 1948. — L'action des hormones androgènes sur la différenciation sexuelle des embryons de Poulets. *Arch. d'Anat., Histol. et Embryol.*, **31**, 237-310.
- WOLFF (ET.) et WOLFF (EM.), 1947 *a*. — Le rôle des hormones sexuelles dans la morphogenèse du pénis chez l'embryon de Canard. *C. R. Ac. Sc.*, **224**, 1452-1453.
- 1947 *b*. — La différenciation sexuelle du tubercule génital et son déterminisme chez le Canard. *C. R. Soc. Biol.*, **141**, 916-917.
- 1951. — The effects of castration on Bird embryos. *J. Exp. Zool.*, **116**, 59-97.
-

Le Directeur de la Publication : G. MASSON.

Imprimé par Soulis et Cassegrain, à Niort (France), 1967.

Dépôt légal : 1^{er} trim. 1967. N^o d'ordre : 747.

Masson et C^{ie}, Edit., Paris. Dépôt légal : 1^{er} trim. 1967. N^o d'ordre : 4251.
(Printed in France.)

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

ACQUISITIONS RÉCENTES SUR LES CNIDOCYSTES

VU ET APPROUVÉ :

Clermont-Ferrand, le 7 décembre 1965.

Le Doyen,

M. ROQUES.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Clermont-Ferrand, le 11 janvier 1966.

Le Recteur,

E. LAPALUS.

Printed in France.